





دانشگاه آزاد اسلامی
واحد علوم و تحقیقات تهران

رساله دکتری رشته شایلات (Ph.D)

عنوان
مطالعه مقایسه ای اثرات محرک های ایمنی Immunowall و Immunoster بر
برخی از شاخص های خونی، بیوشیمیایی و رشد بچه فیل ماهیان پرورشی
(*Huso huso*)

استادان راهنما

دکتر مهدی سلطانی

دکتر محمود بهمنی

استاد مشاور

دکتر عباسعلی زمینی

نگارنده

رضا طاعتی

سال تحصیلی ۱۳۸۹ - ۱۳۸۸

سپاسگزاری

سپاس بیکران خداوند بلند مرتبه را که مرا توفیق داد تا این رساله را با موفقیت به انجام برسانم. از استاد ممتاز و پژوهشگر برجسته دانشگاه تهران و مدیر گروه محترم شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران **جناب آقای دکتر مهدی سلطانی** که به عنوان استاد راهنما با راهنمایی های ارزنده و دقت نظر وافر من را در انجام این رساله یاری نمودند، نهایت سپاسگزاری را دارم. از پژوهشگر ممتاز کشوری و معاونت وقت تحقیقاتی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان **جناب آقای دکتر محمود بهمنی** که به عنوان استاد راهنما با راهنمایی های سازنده و بذل توجه فراوان من را در انجام این رساله یاری نمودند، نهایت سپاسگزاری را دارم. از مدیر گروه ارجمند کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان **جناب آقای دکتر عباسعلی زمینی** که به عنوان استاد مشاور رساله اینجانب را از نقطه نظرات ارزشمند خود بهره مند نمودند، کمال تشکر را دارم.

نگارنده این اثر بر خود لازم می داند از زحمات و تلاش های بیدریغ آقایان:

مهندس محمد حسین طلوعی ریاست وقت مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر، دکتر محمد پورکاظمی رییس انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، دکتر فریبرز جمالزاد معاونت پژوهشی پژوهشکده محیط زیست و متخصص آمار، مهندس رضوان ... کاظمی رییس بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو، مهندس محمد پوردهقانی، مهندس علی حلاجیان، مهندس سهراب دژندیان و مهندس ایوب یوسفی کارشناسان بخش فیزیولوژی و بیوشیمی، دکتر محمود محسنی رییس وقت بخش تکثیر و پرورش انستیتو، دکتر محمد علی یزدانی رییس بخش تکثیر و پرورش انستیتو، دکتر علی فدایی رییس آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی، مهدی ملکی کارشناس خون شناسی آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی، مهندس انوشیروان جعفرزاده کارشناس اداره کل دامپزشکی استان گیلان، دکتر سید جواد ابوالقاسمی، دکتر رضا اکرمی، مهندس ابراهیم حصیرباف، مهندس هوشنگ یگانه، رضا آقاجانی و احمد باقری نهایت تشکر و قدردانی را نماید.

همچنین از بذل توجه و ارایه نظرات ارزشمند دانشمندان خارجی آقایان پروفیسور Einar Ringø استاد گروه بیوتکنولوژی دریایی دانشگاه Tromsø نروژ و صاحب نظر در مورد پروبیوتیک ها و پروبیوتیک ها، پروفیسور Silas S.O. Hung استاد گروه تغذیه آبزیان دانشگاه Davis کالیفرنیا آمریکا و دکتر Delbert M. Gatlin استاد گروه شیلات دانشگاه تگزاس آمریکا کمال سپاسگزاری را دارم.

از هیات داوران محترم رساله، آقایان دکتر ابوالقاسم کمالی، دکتر همایون حسین زاده صحافی و دکتر بهروز ابطی که با ارایه نقطه نظرات ارزشمند خود در ارتقای کیفیت این اثر کوشیدند، سپاسگزاری می نمایم.

تقديم به:

* پدر و مادر عزیزم، مهربانانی که همواره تلاش و امید را در وجودم زنده نگه داشتند و از هیچ تلاشی در جهت موفقیت اینجانب دریغ نکردند.

* همسر نازنینم سرکار خانم مهندس لیلا سرور حقیقی که با صبوری و دلسوزی فراوان لحظات پر فراز و نشیب انجام رساله را عاشقانه همراه من بود.

* تمامی پویندگان عرصه علوم بیکران شیلات

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده	۱
۱- فصل اول: کلیات	۳
مقدمه	۴
۱-۱- خانواده تاس ماهیان	۶
۱-۱-۱- رده بندی گونه فیل ماهی یا بلوگا	۷
۱-۱-۲- خصوصیات ریخت شناسی فیل ماهی	۸
۱-۱-۳- زیستگاه فیل ماهی	۸
۱-۱-۴- پراکنش فیل ماهی	۸
۱-۱-۵- تغذیه فیل ماهی	۸
۱-۱-۶- تولیدمثل فیل ماهی	۹
۱-۱-۷- اهمیت اقتصادی فیل ماهی	۹
۱-۲- اهمیت تغذیه در پرورش فیل ماهیان	۹
۱-۳- اهمیت کاربرد پریبیوتیک ها	۱۰
۱-۴- انواع مواد کمک ایمنی یا محرک ایمنی	۱۲
۱-۴-۱- مواد کمک ایمنی با منشأ زیستی	۱۲
۱-۴-۲- مواد کمک ایمنی استخراج شده از قارچ ها، باکتری ها و مخمرها	۱۳
۱-۴-۳- مواد زیستی استخراج شده از سیستم ایمنی	۱۳
۱-۴-۴- مواد شیمیایی	۱۳
۱-۴-۵- آنالوگ های زیستی سنتتیک	۱۳
۱-۵- محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنوال	۱۳
۱-۶- سیستم ایمنی در ماهیان	۱۵
۱-۶-۱- ایمنی غیر اختصاصی	۱۵
۱-۶-۱-۱- ایمنی غیر اختصاصی (ترکیبات مایع)	۱۵
۱-۶-۱-۱-۱- لیزوزیم	۱۵
۱-۶-۱-۱-۲- ایمنی غیر اختصاصی (سلولی)	۱۶
۱-۶-۱-۲-۱- لنفوسیت ها	۱۷
۱-۶-۱-۲-۲- نوتروفیل ها	۱۷
۱-۶-۱-۲-۳- ائوزینوفیل ها	۱۸
۱-۶-۱-۲-۴- مونوسیت ها	۱۸
۱-۶-۱-۲-۵- ایمنی اختصاصی	۱۸
۱-۶-۱-۲-۶-۱- ایمنی هومورال	۱۸
۱-۶-۱-۲-۶-۱-۱- ایمنوگلوبولین M (IgM)	۱۸
۱-۶-۱-۲-۶-۱-۲- ایمنی با واسطه سلولی	۱۹
۱-۷- اهمیت مطالعه خون	۱۹
۱-۷-۱- شاخص های خونی	۲۰
۱-۷-۱-۱- هماتوکریت	۲۰
۱-۷-۱-۲- هموگلوبین	۲۰
۱-۷-۱-۳- گلبول های قرمز خون (RBC)	۲۱
۱-۷-۱-۴- گلبول های سفید خون (WBC)	۲۱
۱-۷-۱-۵- شاخص های گلبول قرمز یا اندیس های خونی	۲۱
۱-۷-۲- شاخص های بیوشیمیایی	۲۲
۱-۷-۲-۱- پروتئین کل و آلبومین	۲۲
۱-۷-۲-۲- فشار اسمزی سرم خون	۲۲
۲- فصل دوم: پیشینه تحقیق	۲۴
۲-۱- تحقیق های انجام گرفته در ایران	۲۵
۲-۲- تحقیق های انجام گرفته در جهان	۲۵

۲۵	۱-۲-۲- مطالعات انجام شده با مانان الیگوساکارید (MOS).....
۲۶	۲-۲-۲- مطالعات انجام شده با بتاگلوکان.....
۲۸	۳- فصل سوم: مواد و روش ها.....
۲۹	۱-۳- مکان و زمان انجام تحقیق.....
۲۹	۱-۱-۳- مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر.....
۲۹	۲-۱-۳- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان.....
۲۹	۲-۳- مخازن پرورشی.....
۲۹	۳-۳- ذخیره سازی و سازگاری بچه ماهیان.....
۳۰	۴-۳- نحوه ساخت و آماده سازی جیره های غذایی.....
۳۲	۵-۳- نحوه غذادهی و زیست سنجی.....
۳۲	۶-۳- اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب.....
۳۳	۷-۳- محاسبه برخی از شاخص های رشد.....
۳۳	۸-۳- آنالیز لاشه.....
۳۴	۹-۳- فرایند خونگیری و تهیه سرم.....
۳۴	۱-۹-۳- شاخص های خونی.....
۳۴	۱-۱-۹-۳- شمارش گلبول های قرمز و سفید.....
۳۵	۲-۱-۹-۳- اندازه گیری هماتوکریت.....
۳۵	۳-۱-۹-۳- اندازه گیری هموگلوبین.....
۳۵	۴-۱-۹-۳- محاسبه MCV ، MCH و MCHC.....
۳۶	۵-۱-۹-۳- تشخیص افتراقی گلبول های سفید.....
۳۶	۲-۹-۳- شاخص های بیوشیمیایی.....
۳۶	۱-۲-۹-۳- اندازه گیری آلومین.....
۳۶	۲-۲-۹-۳- اندازه گیری پروتئین کل.....
۳۶	۳-۲-۹-۳- اندازه گیری اسمولاریته.....
۳۶	۴-۲-۹-۳- اندازه گیری یون های سدیم و پتاسیم.....
۳۷	۵-۲-۹-۳- اندازه گیری یون های کلسیم و منیزیم.....
۳۷	۶-۲-۹-۳- اندازه گیری ایمونوگلوبولین M (IgM).....
۳۷	۷-۲-۹-۳- اندازه گیری لیزوزیم.....
۳۷	۱۰-۳- روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها.....
۳۸	۴- فصل چهارم: نتایج.....
۳۹	۱-۴- نتایج پارامترهای رشد بچه فیل ماهیان پرورشی.....
۵۰	۲-۴- نتایج پارامترهای آنالیز لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی.....
۵۷	۳-۴- نتایج شاخص های خونی بچه فیل ماهیان پرورشی.....
۷۰	۴-۴- نتایج شاخص های بیوشیمیایی بچه فیل ماهیان پرورشی.....
۷۹	۵-۴- نتایج شاخص های ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی.....
۸۵	۵- فصل پنجم: بحث (نتیجه گیری، جمع بندی و پیشنهادها).....
۸۶	۱-۵- پارامترهای رشد.....
۸۹	۲-۵- شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی.....
۹۲	نتیجه گیری کلی.....
۹۶	پیشنهاد ها.....
۹۷	منابع.....
۱۱۲	چکیده انگلیسی.....

فهرست جداول

عنوان

صفحه

جدول ۱-۳- ترکیبات غذایی جیره های آزمایشی برای تغذیه بچه فیل ماهیان پرورشی در مدت ۸ هفته	۳۱
جدول ۲-۳- آنالیز غذایی جیره های آزمایشی (بر اساس ماده خشک)	۳۲
جدول ۱-۴- مقایسه پارامترهای رشد بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم	۴۰
جدول ۲-۴- مقایسه پارامترهای آنالیز لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم	۵۱
جدول ۳-۴- مقایسه شاخص های خونی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم	۵۸
جدول ۴-۴- مقایسه شاخص های بیوشیمیایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم	۷۱
جدول ۵-۴- مقایسه شاخص های ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم	۸۰
جدول ۱-۵- مقایسه نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات انجام شده با ترکیبات مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان در ایران و جهان	۹۳

فهرست نمودارها

عنوان

صفحه

نمودار (۱-۴): مقایسه وزن نهایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۱
نمودار (۲-۴): مقایسه روند وزن بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۱
نمودار (۳-۴): مقایسه طول نهایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۲
نمودار (۴-۴): مقایسه روند طول بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۲
نمودار (۵-۴): مقایسه درصد افزایش وزن بدن بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۳
نمودار (۶-۴): مقایسه روند درصد افزایش وزن بدن بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۳
نمودار (۷-۴): مقایسه شاخص رشد ویژه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۴
نمودار (۸-۴): مقایسه روند شاخص رشد ویژه بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۴
نمودار (۹-۴): مقایسه ضریب تبدیل غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۵
نمودار (۱۰-۴): مقایسه روند ضریب تبدیل غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۵
نمودار (۱۱-۴): مقایسه میانگین رشد روزانه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۶
نمودار (۱۲-۴): مقایسه روند میانگین رشد روزانه بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۶
نمودار (۱۳-۴): مقایسه ضریب کارایی پروتئین بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۷
نمودار (۱۴-۴): مقایسه روند ضریب کارایی پروتئین بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۷
نمودار (۱۵-۴): مقایسه ضریب چاقی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۸
نمودار (۱۶-۴): مقایسه روند ضریب چاقی بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی	۴۸
نمودار (۱۷-۴): مقایسه شاخص کبدی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۴۹
نمودار (۱۸-۴): مقایسه روند شاخص کبدی بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۴۹
نمودار (۱۹-۴): مقایسه میزان پروتئین لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۵۲
نمودار (۲۰-۴): مقایسه روند میزان پروتئین لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۵۲
نمودار (۲۱-۴): مقایسه میزان چربی لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۵۳
نمودار (۲۲-۴): مقایسه روند میزان چربی لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۵۳
نمودار (۲۳-۴): مقایسه میزان خاکستر لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۵۴

نمودار (۲۴-۴): مقایسه روند میزان خاکستر لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۵۴
نمودار (۲۵-۴): مقایسه میزان کربوهیدرات لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۵۵
نمودار (۲۶-۴): مقایسه روند میزان کربوهیدرات لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۵۵
نمودار (۲۷-۴): مقایسه میزان رطوبت لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۵۶
نمودار (۲۸-۴): مقایسه روند میزان رطوبت لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۵۶
نمودار (۲۹-۴): مقایسه میزان هماتوکریت خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۵۹
نمودار (۳۰-۴): مقایسه روند میزان هماتوکریت خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۵۹
نمودار (۳۱-۴): مقایسه میزان هموگلوبین خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۰
نمودار (۳۲-۴): مقایسه روند میزان هموگلوبین خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۰
نمودار (۳۳-۴): مقایسه تعداد گلبول های قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۱
نمودار (۳۴-۴): مقایسه روند تعداد گلبول های قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر	۶۱
نمودار (۳۵-۴): مقایسه تعداد گلبول های سفید خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۲
نمودار (۳۶-۴): مقایسه روند تعداد گلبول های سفید خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۲
نمودار (۳۷-۴): مقایسه متوسط حجم گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۳
نمودار (۳۸-۴): مقایسه روند متوسط حجم گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۳
نمودار (۳۹-۴): مقایسه متوسط هموگلوبین گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۴
نمودار (۴۰-۴): مقایسه روند متوسط هموگلوبین گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۴
نمودار (۴۱-۴): مقایسه متوسط غلظت هموگلوبین سلولی خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۵
نمودار (۴۲-۴): مقایسه روند متوسط غلظت هموگلوبین سلولی خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۵
نمودار (۴۳-۴): مقایسه تعداد لنفوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۶
نمودار (۴۴-۴): مقایسه روند تعداد لنفوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۶
نمودار (۴۵-۴): مقایسه تعداد نوتروفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۷
نمودار (۴۶-۴): مقایسه روند تعداد نوتروفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۷
نمودار (۴۷-۴): مقایسه تعداد ائوزینوفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۸

نمودار (۴-۴۸): مقایسه روند تعداد ائوزینوفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۸
نمودار (۴-۴۹): مقایسه تعداد مونوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۶۹
نمودار (۴-۵۰): مقایسه روند تعداد مونوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۶۹
نمودار (۴-۵۱): مقایسه میزان پروتئین کل سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۲
نمودار (۴-۵۲): مقایسه روند میزان پروتئین کل سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۲
نمودار (۴-۵۳): مقایسه میزان آلبومین سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۳
نمودار (۴-۵۴): مقایسه روند میزان آلبومین سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۳
نمودار (۴-۵۵): مقایسه میزان اسمولاریته سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۴
نمودار (۴-۵۶): مقایسه روند میزان اسمولاریته سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۴
نمودار (۴-۵۷): مقایسه میزان یون سدیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۵
نمودار (۴-۵۸): مقایسه روند میزان یون سدیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۵
نمودار (۴-۵۹): مقایسه میزان یون پتاسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۶
نمودار (۴-۶۰): مقایسه روند میزان یون پتاسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۶
نمودار (۴-۶۱): مقایسه میزان یون منیزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۷
نمودار (۴-۶۲): مقایسه روند میزان یون منیزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۷
نمودار (۴-۶۳): مقایسه میزان یون کلسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۷۸
نمودار (۴-۶۴): مقایسه روند میزان یون کلسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۷۸
نمودار (۴-۶۵): مقایسه میزان IgM سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۸۱
نمودار (۴-۶۶): مقایسه روند میزان IgM سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۸۱
نمودار (۴-۶۷): مقایسه میزان لیزوزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم	۸۲
نمودار (۴-۶۸): مقایسه روند میزان لیزوزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره	۸۲

فهرست اشكال

صفحه	عنوان
۷	شكل (۱-۱): فيل ماهی بالغ پرورشی
۷	شكل (۲-۱): بچه فيل ماهی پرورشی
۸۳	شكل (۱-۴): لنفوسیت
۸۳	شكل (۲-۴): نوتروفیل
۸۴	شكل (۳-۴): ائوزینوفیل
۸۴	شكل (۴-۴): مونوسیت

فهرست اختصارات

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ADG	Average Daily Growth
BWI	Body Weight Increase
CF	Condition Factor
FCR	Food Conversion Ratio
HSI	Hepatosomatic Index
ICC	Industrial Comercio Exportacao E. Importacao
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IS	Immunoster
IW	Immunowall
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MOS	Mannan Oligosaccharide
MCV	Mean Corpuscular Volume
NFE	Nitrogen Free Extract
PER	Protein Efficiency Ratio
pH	Power of Hydrogen
RBC	Red Blood Cell
RNA	Ribonucleic Acid
SGR	Specific Growth Rate
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
WBC	White Blood Cell

چکیده

پربیوتیک ها ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد و فعال سازی فرایند سوخت و ساز و نیز تحریک فعالیت باکتری های موجود در دستگاه گوارش اثرات سودمندی برای میزبان دارند. ترکیبات ایمنواستر و ایمنووال جز پربیوتیک ها و محرک های ایمنی بوده که از دیواره سلولی خارجی مخمر آجو (*Saccharomyces cerevisiae*) استخراج می شوند. آنها دارای ترکیبات مانان الیگوساکارید (MOS) و بتا گلوکان هستند.

پس از یک ماه سازگاری با شرایط پرورشی و جیره پایه تعریف شده، ۴۵۰ عدد بچه فیل ماهی پرورشی با میانگین وزنی $9/38 \pm 95/58$ گرم به مدت ۸ هفته و به صورت تصادفی به ۱۵ تانک فایبرگلاس با ابعاد ($2 \times 2 \times 0/53$ متر) و با تراکم ۳۰ عدد در هر تانک در قالب ۵ تیمار (شاهد، ایمنواستر ۱٪، ایمنووال ۱٪، ایمنواستر ۳٪ و ایمنووال ۳٪) با ۳ تکرار (طرح کاملاً تصادفی) توزیع شدند. میانگین دما، اکسیژن محلول و pH طی دوره پرورش به ترتیب $20/55 \pm 5/11$ درجه سانتی گراد، $6/73 \pm 0/35$ میلی گرم در لیتر و $7/92 \pm 0/09$ بود. محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال در دو سطح ۱٪ و ۳٪ جانشین سلولز موجود در جیره پایه به استثنای گروه شاهد گردیدند. در ابتدا، وسط و پایان دوره تغذیه، آنالیز لاشه جهت تعیین سطوح رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر و کربوهیدرات کل و نیز نمونه برداری از خون جهت اندازه گیری فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی انجام گرفت.

در پایان دوره، شاخص های رشد نظیر وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR)، میانگین رشد روزانه (ADG)، ضریب کارایی پروتئین (PER)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و ضریب چاقی (CF) در ماهیان تغذیه شده با ایمنواستر و ایمنووال در هر دو سطح ۱٪ و ۳٪ اختلافاتی را نسبت به شاهد نشان دادند که این اختلافات در سطح ۳٪ ایمنواستر و سطوح ۱٪ و ۳٪ ایمنووال در مقایسه با شاهد معنی دار بودند ($P < 0/05$). شاخص کبدی (HSI) اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P > 0/05$) و میزان بقا در تمامی تیمارها ۱۰۰٪ بود. میزان پروتئین لاشه در ماهیان تغذیه شده با ایمنواستر و ایمنووال در هر دو سطح ۱٪ و ۳٪ افزایش را نسبت به گروه شاهد نشان داد که تیمار ایمنواستر ۳٪ اختلاف معنی داری با گروه شاهد داشت ($P < 0/05$).

ماهیان تغذیه شده با ایمنواستر و ایمنووال نتایج گوناگونی را در زمینه فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی نشان دادند. اختلاف معنی داری در فاکتور MCV بین ایمنووال ۱٪ و ایمنواستر ۳٪ با گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0/05$).

اگرچه افزایشی در مقادیر شاخص های هماتوکریت، هموگلوبین (به استثنای تیمار ایمنواستر ۱٪)، گلبول های سفید (به استثنای تیمار ایمنووال ۳٪)، MCH، نوتروفیل، پروتئین کل، آلبومین (به استثنای تیمار ایمنواستر ۳٪)، یون پتاسیم و لیزوزیم در گروه های تغذیه کرده از ایمنواستر و ایمنووال نسبت به شاهد ملاحظه شد ولی این افزایش معنی دار نبود ($P > 0/05$). بیشترین تعداد گلبول های سفید و بالاترین میزان یون Ca^{2+} در تیمار ایمنووال ۱٪ دیده شدند. بیشترین تعداد لنفوسیت، بالاترین مقادیر پروتئین کل، آلبومین و IgM در تیمار ایمنووال ۳٪ ثبت گردیدند. تیمار ایمنواستر ۱٪ دارای بالاترین تعداد نوتروفیل و بیشترین غلظت لیزوزیم بود.

بر اساس نتایج مذکور می توان اظهار نظر نمود که محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال در هر دو سطح به کار رفته می توانند نقش مهمی را در افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه و نیز بهبود بسیاری از شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی در بچه فیل ماهیان پرورشی ایفا نمایند.

واژگان کلیدی: فیل ماهی (*Huso huso*)، محرک های ایمنی، ایمنواستر، ایمنووال، عملکرد رشد و شاخص های خونی و بیوشیمیایی.

فصل اول: کلیات

مقدمه

دریاچه خزر یکی از مهمترین حوضه های آبی است که بخش اعظم تولید ماهیان خاویاری جهان را به خود اختصاص داده است. تاس ماهیان از گروه ماهیان آب های نیمکره شمالی محسوب می شوند که از اوایل دوران ژوراسیک (قریب به ۲۰۰ میلیون سال پیش) تاکنون به بقای خود ادامه دادند. از این رو دانشمندان آنها را فسیل زنده نامیده اند. همه تاس ماهیان رود کوچ بوده و از دریا به رودخانه و یا از دریاچه به رودخانه مهاجرت می کنند (بهمنی، ۱۳۸۴ الف).

در سالیان اخیر با کاهش صید تاس ماهیان در دریای خزر پرورش گوشتی آنها در جهان انگیزه های قوی را به دست آورده است (Rosenthal, 2000). استفاده از غذاهای با صرفه در پرورش متراکم آبزیان موضوع جا افتاده و ثابت شده ای است. افزایش دانش نیازهای غذایی گونه های اختصاصی ماهی و میگو توام با پیشرفت در تکنولوژی ساخت غذا و روش های غذایی در توسعه آبی پروری مدرن نقش کلیدی داشته اند. در حال حاضر معضل عمده در آبی پروری تجاری، بهبود جیره های غذایی فرموله شده برای افزایش رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می باشد (گذار، ۱۹۹۶).

صنعت آبی پروری علیرغم رشد چشمگیر همواره با مشکلاتی روبرو بوده است که از آن جمله می توان به کنترل کیفیت آب و شیوع بیماری ها اشاره نمود. بیشترین تلاش در آبی پروری پایدار در ارتباط با استراتژی های تغذیه و بهینه سازی شرایط پرورشی عاری از عوامل بیماریزا برای گونه های مهم ماهیان تجاری قابل پرورش می باشد. در این راستا استفاده از ترکیبات پریبیوتیک به عنوان ایده ای نوین در آبی پروری به دلیل داشتن خصوصیات محرک رشد بودن و افزایش ایمنی در موجودات از اهمیت شایانی برخوردار هستند (پور امینی و حسینی فر، ۱۳۸۶).

در تکثیر و پرورش آبزیان پیشگیری بسیار مهم است. از روش های مفید امروزه، بالا بردن مقاومت از طریق تاثیر در سیستم ایمنی بدن ماهیان می باشد که سعی بر تقویت سیستم ایمنی از طرق مختلف مثل واکسیناسیون و استفاده از مواد تشدید کننده ایمنی نظیر پریبیوتیک ها، ترکیبات گلوکان، محرک های ایمنی و... است که در سیستم های مدرن پرورش ماهی رایج شده است. مواد محرک ایمنی مقاومت در برابر بیماری های عفونی را با تقویت سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی افزایش می دهند. اگرچه حافظه ایمنی در چنین مواردی بسیار کوتاه است (سلطانی، ۱۳۸۷). محرک های ایمنی ترکیبات زیستی و یا مواد شیمیایی سنتتیک هستند که واکنش های ایمنی را بوسیله از دیاد عملکرد سلول های بیگانه خوار و افزایش تولید آنتی بادی تحریک می کنند (سلطانی، ۱۳۸۷ ؛ Sakai, 1999).

ضرورت انجام تحقیق

- ۱- تقویت سیستم ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی با استفاده از محرک های ایمنی ایمنواستر (ساخت شرکت Awill استرالیا) و ایمنووال (ساخت شرکت ICC برزیل) که برای اولین بار در جهان پیشنهاد می گردد.
- ۲- افزایش میزان رشد و درصد بقا بچه فیل ماهیان پرورشی
- ۳- کاهش میزان استفاده از داروهای شیمیایی و انواع آنتی بیوتیک ها
- ۴- کاهش ضریب تبدیل غذایی (FCR)
- ۵- امکان دستیابی به کاهش طول مدت پرورش از طریق افزایش رشد بچه فیل ماهیان پرورشی

اهداف پژوهش

- ۱- تعیین اثرات سطوح ۱٪ و ۳٪ محرک ایمنی ایمنواستر در جیره غذایی بر برخی از شاخص های رشد، خونی، بیوشیمیایی و ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی.
- ۲- تعیین اثرات سطوح ۱٪ و ۳٪ محرک ایمنی ایمنووال در جیره غذایی بر برخی از شاخص های رشد، خونی، بیوشیمیایی و ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی.

سوالات تحقیق

- ۱- آیا استفاده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال در سطوح ۱٪ و ۳٪ در جیره غذایی می تواند باعث بهبود و ارتقاء شاخص های رشد و ماندگاری بچه فیل ماهیان پرورشی شود؟
- ۲- استفاده از سطوح ۱٪ و ۳٪ محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال در جیره غذایی چه تغییراتی را در شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی ایجاد می کند؟
- ۳- با توجه به تفاوت سطوح بتاگلوکان و مانان الیگوساکارید در این دو ترکیب کدامیک در جیره غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی مفیدتر است؟

فرضیه های تحقیق

- ۱- کاربرد محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال اثرات مشابه و مساوی بر فاکتورهای رشد بچه فیل ماهیان پرورشی دارند.
- ۲- اثرات محرک ایمنی ایمنووال بر شاخص های رشد بچه فیل ماهیان پرورشی بیشتر از ایمنواستر است.
- ۳- استفاده از سطح ۳٪ محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی می شود.
- ۴- استفاده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال باعث افزایش در صد بقا می شود.
- ۵- استفاده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال باعث افزایش برخی از شاخص های خونی نظیر تعداد گلبول های قرمز، تعداد گلبول های سفید، شاخص های ایمنی شامل IgM و لیزوزیم و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی نظیر پروتئین کل می شود.

۱-۱- خانواده تاس ماهیان (Acipenseridae)

این ماهیان دارای بدنی کشیده، دراز، دوکی شکل و پوشیده از پنج ردیف صفحات استخوانی طولی اند. یک ردیف از این صفحات استخوانی پشتی، دو ردیف جانبی و دو ردیف شکمی هستند. برخی گونه ها علاوه بر صفحات فوق الذکر، دارای یک ردیف صفحه استخوانی در بالای صفحات استخوانی پهلوئی هستند. معمولاً "مابین صفحات استخوانی، دانه های کوچک و بزرگ و برجستگی های استخوانی پوستی دیگری به طور نامنظم دیده می شوند (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲).

سر پوشیده از صفحات استخوانی با منشاء پوستی است. دهان استوانه ای یا خرطومی شکل این ماهیان دارای قابلیت جهش به طرف جلو است و درون حفره ای زیر سر قرار گرفته است. پوزه این ماهیان کشیده، مخروطی و یا کم و بیش پارویی است. زیر پوزه چهار سبیلک در یک ردیف و به صورت عرضی جلوی دهان قرار گرفته است. لب پایین به دو حالت صاف یا شکاف دار دیده می شود.

باله دمی هتروسرک (نامتقارن) است و گاهی هم فلس های لوزی شکل یا گانویید روی آن دیده می شود. باله پشتی در بخش عقبی بدن در نزدیکی باله دمی قرار گرفته است. اولین شعاع باله سینه ای سخت و نوک تیز بوده که برای تعیین سن به کار برده می شود. افراد بزرگسال فاقد دندان هستند.

در طرفین سر یک سوراخ بینی جلو چشم همان طرف وجود دارد. در هر طرف سر یک شکاف آبششی وجود دارد که سرپوش آبششی آن را پوشانده است. ستون فقرات در تاس ماهیان غضروفی است و جمجمه غضروفی با پوشش صفحات استخوانی محفوظ شده است. بخش هایی از سطح داخلی روده دارای غشای مارپیچی است. مخروط سرخرگی در این ماهیان دیده می شود. کیسه شنا در تاس ماهیان ساده و با روده ارتباط دارد (Holcik, 1989; وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۸).

تاس ماهیان نیمه مهاجر در آب های شیرین زندگی کرده و تا سال های متمادی در آب رودخانه و دریاچه های آب شیرین تغذیه و رشد می کنند. از نظر اقلیمی، تاس ماهیان خاص مناطق نیمکره شمالی بوده و در آب های مناطق استوایی و نیمکره جنوبی یافت نمی شوند. از نظر رژیم حرارتی، تاس ماهیان قدرت تحمل بسیار زیادی دارند، تا حدی که در سرمای زیاد و زیر یخ ها قادر به زندگی هستند و اغلب در رودخانه های ولگا، اب، لنا و دن در حالی که هوا سردتر از ۳۰- درجه سانتی گراد است، زیر یخ هایی به قطر چند متر مشاهده می شوند. همچنین مانند بسیاری از ماهیان گرمابی، حتی در حرارت های تا ۳۴ درجه سانتی گراد به فعالیت های حیاتی خود ادامه می دهند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸).

۱-۱-۱- رده بندی گونه فیل ماهی یا بلوگا (*Huso huso* (Linnaeus, 1758) (Holcik, 1989)
شاخه : Chordata
رده : Osteichthyes
زیر رده : Actinopterygii
دون رده : Chondrostei
راسته : Acipenseriformes
خانواده : Acipenseridae (Sturgeon fishes)
جنس : *Huso* (Brandt, 1869)
گونه : *Huso huso* (Linnaeus, 1758)



شکل (۱-۱): فیل ماهی بالغ پرورشی (*Huso huso*)



شکل (۲-۱): بچه فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*)

۱-۱-۲- خصوصیات ریخت شناسی فیل ماهی

بدن حجیم و دوکی شکل بوده و به سمت دم از ارتفاع آن کاسته می شود تا جایی که ماهی حالت گوز پشت پیدا می کند. سر بسیار بزرگ، دهان بزرگ و نیمه هلالی بوده و تا لبه های شکمی- جانبی سر کشیده شده است. سبیلک ها به تعداد ۴ عدد بلند و پرک مانند از دو طرف فشرده شده اند. غشاهای آبششی به یکدیگر متصل بوده و چین آزادی را تشکیل می دهند. خارهای آبششی میله مانند و تیزند (Holcik, 1989; عباسی و همکاران، ۱۳۷۸ و وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۸).

صفحات استخوانی پشتی بیضی شکل بوده و با پوست نرمی پوشیده شده اند. صفحات جانبی نرم و صافند و صفحات شکمی نیز به طور کامل در زیر پوست پنهان شده اند. بین ردیف های پلاک استخوانی، تعداد زیادی صفحات استخوانی کوچک و دانه هایی نیز دیده می شود. تعداد شعاع های باله پشتی ۸۱-۴۸ و تعداد شعاع های باله مخرجی ۴۱-۲۲ گزارش شده است. تعداد صفحات استخوانی پشتی ۱۷-۹ عدد، جانبی ۵۳-۳۷ و شکمی ۱۴-۷ عدد ثبت شده اند. اولین پلاک استخوانی پشتی کوچکتر از سایر پلاک ها است (Holcik, 1989).

جثه این ماهی بزرگ بوده بطوریکه وزن آن به ۱۵۰۰-۱۰۰۰ کیلوگرم و سن آن تا ۱۰۰ سال نیز می رسد (کیوان، ۱۳۸۱). اما امروزه با افزایش صید بی رویه، ورود انواع آلاینده ها به حوضه های آبی، تخریب زیستگاه ها و اماکن تخم ریزی، نمونه های بسیار کوچکتري صید می شوند (عبدلی، ۱۳۷۸).

۱-۱-۳- زیستگاه فیل ماهی

در خلال زندگی در دریا فیل ماهیان معمولاً در منطقه پلاژیک مستقر می شوند. پراکنش عمودی آنها وابسته به وجود مواد غذایی می باشد. در حوضه دریای سیاه فیل ماهیان در اعماق ۱۶۰ تا ۱۸۰ متری یافت می شوند. اما در دریای خزر در اعماق ۱۰۰ تا ۱۴۰ متری پراکنش دارند (Holcik, 1989). از ماهیان مهاجر به رودخانه و دارای دو شکل مهاجر بهاره و پاییزه می باشد (عباسی و همکاران، ۱۳۷۸). بیشتر مناطقی را که دارای بسترهای پوشیده از گل و لای باشد ترجیح می دهد و می تواند دامنه وسیعی از تغییرات شوری و دما را تحمل کند (عبدلی، ۱۳۷۸).

۱-۱-۴- پراکنش فیل ماهی

فیل ماهی در دریاهای آدریاتیک، سیاه، آزوف، خزر و حوضه آبریز آنها دیده می شود. این ماهی مانند دیگر تاس ماهیان زندگی ژرفایی نداشته و در اصل نوعی ماهی پلاژیک است که رابطه چندانی با قعر دریاها ندارد (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). این گونه در رودهای گرگان، سفیدرود و نیز جنوب شرقی، جنوب غربی و بخش میانی خزر جنوبی مشاهده شده است (Kiabi et al., 1999).

۱-۱-۵- تغذیه فیل ماهی

فیل ماهی یک ماهی فقط گوشتخوار بوده که در گرفتن طعمه بسیار حریص است (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). به نظر می رسد بچه ماهیان از بی مهرگان نظیر لارو حشرات، گاماروس ها، آنتن منشعب ها و پاروپایان تغذیه می کنند (Holcik, 1989; وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۸). بالغین در دریا از کلمه، سیاه کولی، شیشه ماهی، کپور و در فصل مهاجرت به رودخانه از استرلیاد و سوف معمولی تغذیه می کنند (عبدلی، ۱۳۷۸). در دریای آزوف عادات غذایی ماهیخواری بسیار فعالتر و زودتر از دریای خزر می باشد. حتی گزارشاتی مبنی بر شکار پرندگان آبی و بچه فک ها توسط فیل ماهیان عظیم الجثه وجود دارد (Holcik, 1989).

۱-۱-۶- تولید مثل فیل ماهی

فیل ماهی بسیار دیر به سن بلوغ می رسد. در قسمت های جنوبی دریای خزر نرها در ۱۴-۱۲ سالگی و ماده ها در ۱۸-۱۶ سالگی به بلوغ جنسی می رسند (Holcik, 1989; کیوان، ۱۳۸۱). فیل ماهی در قسمت های عمیق رودخانه با جریان شدید آب و بر روی بسترهای سنگلاخی تخم ریزی می کند. تخم ریزی معمولاً در اعماق ۴، ۱۲ تا ۱۵ متری رخ می دهد. تخم های فیل ماهی تخم مرغی شکل، به رنگ نقره ای تیره و قطر آنها ۴ میلی متر است (Holcik, 1989). در دمای ۱۲ تا ۱۴ درجه سانتی گراد رشد طبیعی تخم ها ۸ تا ۹ روز طول می کشد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۸). فاصله بین تخم ریزی بین ۳ تا ۵ و حتی تا ۷ سال است. ماهیان جوان در اوایل سن بلوغ جنسی هر سه سال یکبار تخم ریزی می کنند و سپس این فاصله بیشتر می شود و در سنین پیری استعداد باروری خود را از دست می دهند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). میزان همآوری مطلق آنها بین ۲۲۴۳۰۰ تا ۲۸۵۳۴۰۰ تخم می باشد (عبدلی، ۱۳۷۸).

۱-۱-۷- اهمیت اقتصادی فیل ماهی

با توجه به اینکه این ماهی رشد بسیار خوبی داشته می تواند یکی از گونه های با ارزش اقتصادی باشد. اما در سالیان اخیر به دلیل صید بیش از حد و تخریب زیستگاه های این ماهی، نسل آن تهدید شده و بنابراین لازم است که اقدام به محافظت شود (عبدلی، ۱۳۷۸).

۱-۲- اهمیت تغذیه در پرورش فیل ماهیان

به طور کلی استفاده از غذاهای با صرفه در پرورش متراکم آبزیان موضوعی کاملاً شناخته شده ای است. افزایش دانش نیازهای غذایی گونه های اختصاصی ماهی و میگو توأم با پیشرفت در تکنولوژی ساخت غذا و روش های غذادهی در توسعه آبزی پروری مدرن نقش کلیدی داشته اند. اگرچه دانش ما در زمینه احتیاجات غذایی بیشتر گونه های پرورشی تا رسیدن به هدف نهایی خیلی فاصله دارد ولی صنعت غذای آبزیان به صورت فراگیر توسعه پیدا کرده و غذاهای فرموله شده برای طیف وسیعی از گونه های آبزیان به صورت تجاری تولید می شود. غذاهای فرموله شده به صورت مکمل یا جانشین غذاهای طبیعی در جیره های ماهیان مورد استفاده قرار می گیرند. در دنیای آبزی پروری یک تمایل سراسری به سمت افزایش روش های متراکم پرورش وجود دارد. این تمایل در مقیاس بزرگ، نتیجه مستقیم دسترسی گسترده به غذاهای آبزیان و به موازات آن، روش های پیشرفته مدیریت کیفیت آب، کنترل بیماری ها و روش های کلی پرورش می باشد (گدارد، ۱۹۹۶).

در سالیان اخیر با کاهش صید تاس ماهیان در دریای خزر پرورش گوشتی آنها در جهان انگیزه های قوی را به دست آورده است. بطوریکه امروزه در بسیاری از نقاط جهان از جمله ایران، آمریکا، فرانسه، روسیه، ایتالیا، چین، اسپانیا و... پرورش گوشتی و امکان گرفتن لارو از مولدین طبیعی در نتیجه تشکیل گله های مولد تاس ماهیان در استخرهای خاکی، وان های فایبرگلاس و حوضچه های بتنی فراهم شده است (Rosenthal, 2000). علاوه بر آن، دستیابی به بیوتکنیک مولد سازی و تکثیر ماهیان خاویاری پرورشی و تولید خاویار، لارو، بچه ماهی و نیز نسل سوم در گونه های مختلف ماهیان خاویاری در ایران با موفقیت میسر گردیده است (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۳، ۱۳۸۴ و ۱۳۸۶).

از بین تاس ماهیان موجود در منطقه خزر جنوبی، گونه فیل ماهی به دلیل بومی بودن، رشد نسبتاً سریع، امکان تولید مثل در شرایط اسارت، تامین لارو و بچه ماهی آن با هزینه کمتر در مقایسه با سایر گونه های ماهیان خاویاری کاندید مناسبی برای پرورش به شمار می رود (محسنی و همکاران، ۱۳۷۹).

بنابراین با توجه به کاهش صید فیل ماهی و تقاضای بالا برای گوشت آن، پرورش فیل ماهی به منظور تولید گوشت از وزن ۳ تا ۵ گرم ضروری به نظر می‌رسد. در حال حاضر فیل ماهی در مزارع پرورشی، استخرهای خاکی یا استخرهای بتونی و محیط‌های محصور شده در ساحل دریا پرورش داده می‌شود. با توجه به اینکه در پرورش آبزیان ۵۰٪ هزینه‌های پرورش مربوط به تغذیه می‌باشد، لذا جهت سودمند کردن امر پرورش ماهیان خاویاری، نیاز به دقت جدی در مراحل غذایی و استفاده از غذاهای مصنوعی با کیفیت مناسب می‌باشد (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۴).

ماهیان خاویاری از نظر بینایی بسیار ضعیف هستند ولی حواس بویایی و چشایی آنها به دلیل وجود گیرنده‌های شیمیایی به خوبی توسعه یافته و در واقع حواس اساسی و بنیادی برای رفتارهای تغذیه‌ای، تخم‌ریزی، مهاجرت و جهت‌یابی در این ماهیان به شمار می‌روند. در ماهیان خاویاری تعداد زیادی جوانه‌های چشایی درون دهان، اطراف دهان، اطراف سبیلک‌ها و ناحیه شکمی وجود دارند که دارای گیرنده‌های شیمیایی هستند. ماهی از حس چشایی خود برای گرفتن و یا شکار طعمه و رفتارهای بلعیدن استفاده می‌کند (Kasumyan, 1999).

کسب اطلاعات در خصوص تغذیه مطلوب در ماهیان برای پرورش دهندگان ماهی بسیار مهم می‌باشد. تغذیه بیش از حد منجر به کاهش کیفیت آب، افزایش بیماری، مرگ و میر ماهیان، پایین آمدن ظرفیت و کارایی تولید و تغذیه می‌شود (Hung et al., 1989).

نتایج مطالعات علمی نشان داد که کارایی تغذیه، درصد غذایی، درجه حرارت آب و اندازه ماهی از جمله عوامل اقتصادی هستند که قابلیت تولید تجاری ماهیان را تعیین می‌کنند (Brett and Groves, 1979). بنابراین به منظور افزایش بازده تولید و فراهم آوردن سوددهی بیشتر، ارزیابی اقتصادی تغذیه و تعیین نیازهای غذایی ماهیان بسیار ضروری می‌باشد (Deng, 2000).

برای تولید تجاری و کارآمد تاس ماهیان، مدیریت قوی، شرایط مناسب پرورش، غذایی با جیره‌های مناسب که حاوی ترکیبات ارزان‌تر و در عین حال موثر که اپتیموم رشد و کمترین مقدار FCR را داشته باشد، ضروری به نظر می‌رسد (Hung and Lutes, 1987).

در حال حاضر معضل عمده در آبی پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای افزایش رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. محققین معتقدند که افزایش کارایی تولید آبزیان، به ترکیبات سازنده مواد غذایی نظیر پروتئین، چربی، ویتامین‌ها، مواد معدنی، قیمت و در دسترس بودن آن بستگی دارد (Chebanov and Billard, 2001).

۱-۳- اهمیت کاربرد پروبیوتیک‌ها

صنعت آبی پروری علیرغم رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به کنترل کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و اشاره نمود. به نحوی که شیوع بیماری‌ها به عنوان مشکل عمده آبی پروری، گسترش اقتصادی این صنعت را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تاثیر قرار داده است. گرچه راه حل‌هایی نیز برای حل این مشکل ارائه گردیده که موفقیت‌چندانی را نداشته است. از جمله در زمینه کنترل بیماری‌ها، استفاده از داروها خود مشکلات عدیده‌ای از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا، مسایل زیست محیطی و را ایجاد نمودند (پورامینی و حسینی فر، ۱۳۸۶).

به دلیل غیر قابل تضمین بودن زنده ماندن پروبیوتیک (باکتری‌ها) اضافه شده به دستگاه گوارش و توانایی شرایط حاکم بر آن و الزام رقابت پروبیوتیک معرفی شده با میکروفلور موجود در روده و توانایی تشکیل کلونی موثر، آثار نامشخص موجودات پروبیوتیکی در محیط زیست، هزینه بالای تهیه آنها، ملاحظات قانونی، امنیت غذایی و مشکلات موجود در ترکیب پروبیوتیک‌ها با غذاهای کنسانتره و اکستروود شده در نهایت منجر به ارائه ایده جدیدی به نام پروبیوتیک گردید (RingØ et al., 2010). جامع‌ترین تعریف پروبیوتیک توسط Gibson و Roberfroid (۱۹۹۵) به شرح ذیل ارائه گردید:

پریبیوتیک ها عناصر غذایی (کربوهیدرات های) غیر قابل هضمی هستند که از طریق رشد یا فعال کردن تعداد محدودی از گونه های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می بخشند. بنابراین پریبیوتیک ها باعث بهبود و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می شوند.

پریبیوتیک ها مکمل های غذایی بالقوه ای هستند که اثرات زیان بار عوامل عفونت ز را کاهش و راندمان تغذیه را ارتقا می دهند. هر ماده غذایی نظیر کربوهیدرات های غیر قابل هضم، نشاسته مقاوم، فیبر های غذایی، برخی پپتیدها، پروتئین و نیز یکسری لیپیدهای معین که به روده برسد به عنوان پریبیوتیک در نظر گرفته می شوند (Fooks and Gibson, 2002). مهمترین ویژگی پریبیوتیک ها عبارتند از:

۱- مقاوم به شرایط اسیدی دستگاه گوارش بوده و به هیچ عنوان نباید در بخش های جلویی یا فوقانی دستگاه گوارش هضم و جذب شوند.

۲- اساساً توسط تعدادی از باکتری های مفید روده به صورت انتخابی تخمیر شوند.

۳- با تغییر در فلور باکتریایی Microbiota روده سبب تولید ترکیبات سالم تری گردند.

۴- ترجیحاً اثراتی را که سبب افزایش سلامتی میزبان می شود، ایجاد نمایند (Fooks et al., 1999). مهمترین ترکیبات الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم که به عنوان پریبیوتیک مورد استفاده قرار می گیرند شامل گلوکوالیگوساکارید، گالاکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید، ایزومالتوالیگوساکارید، زیلوالیگوساکارید و ترانس گالاکتو- الیگوساکارید هستند (RingØ et al., 2010).

الیگوساکاریدها کربوهیدرات هایی با وزن مولکولی کم بوده که از لحاظ ساختاری ما بین قندهای ساده و پلی ساکاریدها قرار گرفته و براساس خصوصیات بیوشیمیایی می توانند به دو دسته قابل هضم و غیر قابل هضم تقسیم شوند. واژه غیر قابل هضم از اتم های C_1 و C_2 تشکیل دهنده واحدهای مونوساکارید چندین الیگوساکارید خوراکی که دارای ترکیبی یکسان بوده، منشاء گرفته که پیوند گلیکوزیدی را به پیوند هیدرولیتیکی جهت فعالیت آنزیم ها تبدیل می کند (Roberfroid and Slavin, 2000).

الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم شامل کربوهیدرات هایی هستند که گروه مونوساکاریدی آنها را فروکتوز، گالاکتوز، مانوز، گلوکز و زایلوز تشکیل می دهد. این الیگوساکاریدها به عنوان محرک رشد باکتری های مفید روده ای نیز مطرح بوده که غالباً از گونه بیفیدوباکترها هستند (RingØ et al., 2010).

پریبیوتیک ها در جذب مواد معدنی از روده نقش دارند. افزایش جذب کلسیم، منیزیم، روی و آهن در حیوانات آزمایشگاهی از اثرات بالقوه پریبیوتیک ها بر سلامتی موجودات می باشد (Delzenne and Roberfroid, 1994).

پریبیوتیک ها همچنین سبب بهبود متابولیسم چربی ها از طریق کاهش کلسترول، تری گلیسیریدها و فسفولیپیدها در سرم خون می شوند (Van Loo et al., 1999).

مشخص شده که فیبرها و کربوهیدرات های غیر قابل هضم سبب کاهش آمونیاک در خون و سطح اوره سرم می شوند. احتمالاً این اثرات با تثبیت نیتروژن توسط باکتری های روده ای به همراه اسیدیفیکاسیون روده ای و تبدیل آمونیاک قابل انتشار به آمونیوم با قابلیت انتشار کمتر مرتبط است (Jenkiss et al., 1999).

امروزه آبزیان در محیط های بسته همچون استخرهای خاکی یا سیمانی، قفس ها و تانک ها پرورش داده می شوند و تلاش در بالا بردن تراکم آبزیان در واحد سطح یکی از مهم ترین عوامل پیشرفت و افزایش تولید صنعت شیلات است. بی شک بالا بودن تراکم پرورش اثر معکوسی بر وضع سلامت و بهداشت ماهی خواهد گذاشت و این وضعیت سبب ایجاد شرایط محیطی نامناسب و استرس زا و نیز

افزایش حساسیت ماهی به عوامل بیماریزا می شود. این افزایش حساسیت موجب بالا رفتن خطر بیماری شده، پس باید با اتخاذ شیوه هایی، بقا و رشد مناسب آنها را حفظ کرد (سلطانی، ۱۳۸۷). داروهای شیمیایی فراوانی نظیر آنتی بیوتیک ها برای درمان و مقابله با عفونت های میکروبی در ماهیان و میگوهای پرورشی در ۲۰ سال اخیر مورد استفاده قرار گرفتند ولی با بروز مقاومت های دارویی، تخریب فلور باکتریایی محیط، ایجاد مقاومت باکتری ها نسبت به آنها و نیز هزینه بالا و اثرات اندک (در برخی موارد) امروزه مورد استفاده قرار نمی گیرند. تحقیقات نشان داده که آنتی بیوتیک های خاصی باعث تضعیف سیستم ایمنی آبزیان می شوند و آنها را در برابر بیماری های ویروسی و انگلی ضربه پذیر می سازد. این موارد باعث وضع قوانینی در راستای استفاده کمتر از آنتی بیوتیک ها در اروپا و وضع قوانین شدیدتر در آمریکا شده است. این سیاست ها می توانند بر صنعت آبزی پروری تاثیر گذاشته و توجه به ایجاد راه کارهای جایگزین برای کنترل بیماری ها را بیشتر کند (Gatlin, 2002). امروزه، جهت بالابردن مقاومت سیستم ایمنی از واکسیناسیون و یا مواد تشدید کننده ایمنی یا محرک های ایمنی استفاده به عمل می آید (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Torrecillas et al., 2010).

محرک های ایمنی ترکیبات زیستی و یا مواد شیمیایی سنتتیک هستند که واکنش های ایمنی را بوسیله از دیاد عملکرد سلول های بیگانه خوار و افزایش تولید آنتی بادی تحریک می کنند (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Bagni et al., 2005; Sakai, 1999). این مواد نقش تحریک کنندگی و نیز تنظیم سیستم ایمنی را داشته و به علاوه به صورت بالقوه نقش ایمنی زایی دارند. از عملکردهای مهم محرک های ایمنی می توان به افزایش قدرت بیگانه خواری، افزایش تولید آنتی بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول های سفید و... اشاره نمود (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Sakai, 1999).

زمان و دوره استفاده از محرک های ایمنی بسیار مهم است. اغلب زمان مناسب استفاده از آنتی بیوتیک ها در هنگام بروز بیماری است و نمی توان از آنها برای کاهش خطر بیماری های باکتریایی (پیشگیری با دارو) استفاده کرد زیرا خطر ایجاد باکتری های مقاوم به درمان وجود دارد. اما در مورد محرک های ایمنی به طور معمول قبل از بروز بیماری ها کارایی بیشتری دارند. محرک های ایمنی می توانند در مواقع ایجاد استرس بر سیستم ایمنی اثر جبرانی داشته باشند. بسیاری از پژوهشگران تزریق محرک های ایمنی در ماهیان را روش موثر در ایجاد ایمنی در مقابل عوامل بیماریزا دانسته اند ولی این روش بسیار دشوار و وقتگیر و در مورد ماهیان با وزن زیر ۱۵ گرم غیر ممکن است. در نتیجه از روش های دیگری مانند مصرف خوراکی و غوطه ورسازی باید استفاده نمود (سلطانی، ۱۳۸۷).

استفاده از محرک های ایمنی در مورد گلکوان ها، لاکتوفرین، لوامیزول و کیتوزان با موفقیت صورت گرفته است. روش خوراکی عاری از هر گونه استرس بوده و به اندازه ماهی نیز بستگی ندارد. مصرف خوراکی این نوع محرک های ایمنی در افزایش عملکرد گلبول های سفید و ایجاد ایمنی در برابر بیماری های گوناگون موثر بوده است (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Sakai, 1999). استفاده بیش از اندازه و یا طولانی مدت از محرک های ایمنی سبب سرکوب سیستم ایمنی و جلوگیری از واکنش های ایمنی می شود (Sakai, 1999).

۴-۱- انواع مواد کمک ایمنی یا محرک ایمنی

۴-۱-۱- مواد کمک ایمنی با منشأ زیستی

از مهمترین این مواد می توان به مایکوباکتریوم ها (مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و مایکوباکتریوم مرینوم کشته)، ساپونین شامل کوئیل A و کمپلکس های تحریک کننده ایمنی، ویتامین های A، C و E، ترکیبات کیتین و کیتوزان (ترکیبات پلی ساکاریدی موجود در اسکلت خارجی سخت پوستان و حشرات)، پروتئین سویا و.... اشاره نمود (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Sakai, 1999).

۱-۴-۲- مواد کمک ایمنی استخراج شده از قارچ ها، باکتری ها و مخمرها
از مهمترین این مواد می توان پپتیدوگلیکان باکتری ها، ترکیبات بتا ۱-۳ گلوکان و بتا ۱-۶ گلوکان،
مورامیل دوپپتیدی و انواع پرپیوتیک ها نظیر مانان الیگوساکارید (MOS) (مشتق شده از دیواره
سلولی مخمر آبجو) نام برد (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Sakai, 1999; RingØ *et al.*, 2010).

۱-۴-۳- مواد زیستی استخراج شده از سیستم ایمنی
از معروفترین مواد زیستی استخراج شده از سیستم ایمنی می توان به سیتوکلین ها، لاکتوفرین،
هورمون های رشد و پرولاکتین اشاره کرد (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Sakai, 1999).

۱-۴-۴- مواد شیمیایی
این مواد شامل ترکیبات آلومینیومی مانند لوامیزول، هیدروکسید آلومینیوم، سولفات آلومینیوم، فسفات
آلومینیوم، فسفات کلسیم و... می باشند (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۴-۵- آنالوگ های زیستی سنتتیک
برخی از مواد کمک ایمنی متداول سنتتیک زیستی هومولوگ عبارتند از: پلی مرهایی از نوع RNA
دو رشته ای، مورامیل دوپپتیدی مصنوعی، لیزوزیم دی مر و... (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۵- محرک های ایمنی ایمنواستر Immunoster و ایمنوال Immunowall
ایمنواستر و ایمنوال محرک های سیستم ایمنی می باشند که براساس خاصیت تحریک کنندگی بتا
گلوکان های مشتق شده از دیواره سلولی مخمر آبجو (*Saccharomyces cerevisiae*) عمل
می کنند (Awil, 2007; ICC, 2007). مخمر آبجو در حقیقت یک تک سلولی است که می تواند به
عنوان منبع پروتئین جانشین پروتئین آرد ماهی در جیره غذایی ماهیان شود. بسیاری از مطالعات نشان
داده اند که این مخمر می تواند جایگزین ۲۵ تا ۵۰ درصد پروتئین آرد ماهی شود بدون اینکه تاثیر
منفی بر میزان رشد موجود بگذارد (Li and Gatlin, 2003).
مخمر آبجو که در صنعت نانوائی از آن استفاده می شود شامل بتاگلوکان، اسید نوکلئیک و نیز مانان
الیگوساکارید بوده و قادر است واکنش های ایمنی را ارتقاء دهد (Ortuno *et al.*, 2002).
محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنوال به ترتیب حاوی ۲۰ و ۱۷ درصد بتا ۱،۳ گلوکان می باشند
(Awil, 2007; ICC, 2007).

بتا گلوکان پلی ساکاریدهای تشکیل یافته از مولکول های گلوکز بوده که توسط باندهای ۱،۳- β و ۱،۶- β
به یکدیگر اتصال می یابند. مطالعات نشان داده اند بتا گلوکان ها با باندهای ۱،۳- β و ۱،۶- β
معمولاً در دیواره سلولی مخمرها، باکتری ها، جلبک ها، قارچ ها و گیاهان یافت می شوند (Ai *et al.*, 2007; Dalmo and Bogwald, 2008).

گزارش های متعددی نشان داده اند که گیرنده های گلوکان در ماهیان روی ماکروفاژها قرار داشته
(Engstad and Robertsen, 1993) و قادرند از طریق فعال سازی مستقیم ماکروفاژها باعث
ارتقاء ایمنی غیر اختصاصی شوند (Robertsen, 1999).

این ماده باعث افزایش فعالیت پروتئین های ضد میکروبی نظیر لیزوزیم و کمپلمان، تحریک
فعالیت های بیگانه خواری سلول های بیگانه خوار نظیر ماکروفاژها، تولید آنتی بادی توسط سلول
های پلازما و همچنین تحریک فرایندهای فعال سازی لنفوسیت ها می شود که در نتیجه باعث افزایش
سطح ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی بدن، افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماریزا و کاهش
مرگ و میر در ماهیان می شود (Sakai, 1999; Dalmo and Bogwald, 2008). همچنین بتا
گلوکان ها به عنوان عوامل کاهنده استرس مورد توجه قرار گرفته اند (Cain *et al.*, 2003).

استفاده از بتا گلوکان ها در رژیم غذایی ماهیان فواید بسیاری دارد. آنها ارزان قیمت بوده و به راحتی و با سرعت تولید می شوند و در فرایند پلت کردن جیره های غذایی کاملاً پایدارند. همچنین این ترکیبات کاملاً طبیعی بوده و هیچ اثر منفی بر موجود زنده و محیط زیست ندارند. نهایتاً اینکه افزودن آنها به جیره غذایی باعث پایداری شدن وضعیت فیزیولوژیکی موجود که در ارتباط با سیستم ایمنی هست، می شود (Rodriguez *et al.*, 2003).

میزان تاثیر گلوکان بر رشد موجود و سیستم ایمنی آن بستگی به میزان درصد آن در جیره غذایی، مدت زمان تغذیه و همچنین نوع گونه مورد مطالعه دارد (Sakai, 1999; Ai *et al.*, 2007).

پریبیوتیک ایمنواستر حاوی ۱۹٪ و پریبیوتیک ایمنوال حاوی ۴۰٪ کربوهیدرات مانان الیگوساکارید (MOS) می باشند (Awil, 2007; ICC, 2007). این ترکیب به مقدار بسیار زیادی در دیواره

سلولی مخمر آجو یافت می شود (Sohn *et al.*, 2000; Bland *et al.*, 2004). اثرات MOS بر روی آبزیان در چندین مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. مانان الیگوساکاریدها

از واحدهای قندی به نام مانوز تشکیل شده اند. گیرنده مانوز یک گیرنده داخل سلولی ماکروفاژها و سلول های اندوتلیال بوده که دارای پیوندهای طبیعی شامل گلیکان های میکروبی و گلیکوپروتئینی می باشد. لیگاندهای حاوی مانوز با سایر گیرنده ها متصل شده و سبب فعال سازی گلبول های سفید می شوند. زیرا مولکول های حاوی مانوز سیگنال های بین سلولی را به تولید سیتوکین های ضد التهابی ترغیب می نمایند (Linehan *et al.*, 2000).

مانان الیگوساکاریدها گلوکومانوپروتئین های غیر قابل هضمی هستند که بسترها یا محل استقرار مانوزها را روی پرزهای مخملی روده (Microvilli) فراهم آورده و مانع چسبیدن یا اتصال باکتری های بیماریزا از جمله سالمونلا، کلستریدیوم و ای کولای به سلول های انتروسیست (سلول های پوششی جاذب) روده شده، همچنین مانع شکل گیری کلونی های باکتریایی و جلوگیری از عفونت سلول های میزبان می شوند که این خود منجر به افزایش انسجام پرزهای مخملی روده به منظور بهبود و افزایش کارایی روده و بهره برداری بیشتر و بهتر از مواد مغذی می شود (Pryor *et al.*, 2003; Newman, 2007).

بیشتر باکتری ها برای ایجاد بیماری در دستگاه گوارش باید به سطح سلول های اپیتلیال روده ای متصل شوند که آنها این کار را توسط لکتین ها انجام می دهند. مانان الیگوساکارید قسمت های لکتین را اشغال نموده و از پیوستن باکتری های بیماریزا به جدار روده ممانعت به عمل می آورند (Vegad, 2008). مانان الیگوساکارید سبب کاهش چشمگیری در شکل گیری کلونی سالمونلا و اشرشیاکلی در مرغ (Hooge, 2004a)، خرگوش (Fonseca *et al.*, 2004)، خوکچه (Miguel *et al.*, 2002) و بوقلمون (Hooge, 2004b) شده است.

مانان الیگوساکاریدها به عنوان جاذب سموم عمل می کنند و قادرند به طیف وسیعی از سموم قارچی شامل آفلاتوکسین، آکراتوکسین، تی- دو توکسین و... بچسبند. مانان الیگوساکاریدها بسیار پایدار بوده و تحت تاثیر آنزیم های گوارشی و یا تغییرات در اسیدیته دستگاه گوارش قرار نمی گیرند (Vegad, 2008).

مانان الیگوساکارید منبع تغذیه ای مناسب برای رشد و فعالیت باکتری های فلور دستگاه گوارش نظیر باکتری های اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکترها می باشد. باکتری های اسید لاکتیک با تولید ماده باکتریوسین از رشد عوامل بیماریزا جلوگیری به عمل می آورند (RingØ *et al.*, 1998). مانان الیگوساکارید به عنوان منبع انرژی توسط باکتری های اسید لاکتیک مصرف می شود (Miles, 1993).

سایر ترکیبات تشکیل دهنده ایمنواستر عبارتند از: ۳۲٪ پروتئین، ۵/۵٪ رطوبت، ۸٪ خاکستر، ۳۶/۰٪ چربی، ۳٪ فسفر، ۱/۴٪ فیبر. رنگ آن قهوه ای و به صورت پودر است (Awil, 2007).

ایمنووال حاوی ۳۲٪ پروتئین، ۸٪ رطوبت، ۸٪ خاکستر، ۱/۴٪ فیبر، ۳٪ فسفر، ۰/۳۱٪ چربی و ویتامین های B می باشد. رنگ آن قهوه ای روشن و به صورت پودر با بویی مطبوع است (ICC, 2007).

۱-۶- سیستم ایمنی در ماهیان

اختلاف عمده موجود در سیستم ایمنی از نظر تشریحی بین ماهی و پستانداران، فقدان مغز استخوان و گره های لنفاوی در ماهیان است. تیموس، کلیه و طحال بافت های اصلی لنفوبیدی در ماهیان استخوانی حقیقی اند. در حالی که تیموس در ماهی یک اندام لنفوبیدی اولیه به حساب می آید، اندام های لنفوبیدی ثانویه تنوع قابل توجهی را نشان می دهند. بافت های لنفوبیدی اغلب در اندام هایی تشکیل می شوند که جریان خون سینوزویدی داشته و سلول های لنفوبیدی در آنها جمع شده و به حضور آنتی ژن ها پاسخ دهند. این اندام ها در ماهیان عبارتند از: کلیه و طحال. کبد، پوست و روده نیز از اجزا مهم سیستم های دفاعی ماهیان هستند. کلیه، طحال و کبد اندام های اصلی و پاکسازی کننده محسوب می شوند، بطوریکه سلول های اندوتلیال و ماکروفاژهای آنها به شدت نسبت به مواد خودی و غیر خودی که باید از گردش خون حذف شوند، خاصیت آندوسیتوز دارند (سلطانی، ۱۳۸۷).

مهمترین اندام ها و بافت های سیستم ایمنی ماهیان عبارتند از:

- | | | |
|-----------------|--|------------|
| ۱- تیموس | ۷- آبشش ها | ۱۳- پوست |
| ۲- کلیه | ۸- اندام اپی گونال | ۱۴- خون |
| ۳- طحال | ۹- بافت مننژی | ۱۵- فلس ها |
| ۴- کبد | ۱۰- اجسام غاری شکل | |
| ۵- قلب | ۱۱- گره های لنفاوی یا اندام لیدیگ دیواره مری | |
| ۶- مجرای گوارشی | ۱۲- ترشحات موکوسی و صفراوی | |
- ایمنی در ماهیان به دو صورت اختصاصی و غیر اختصاصی تظاهر می یابد (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۶-۱- ایمنی غیر اختصاصی

۱-۶-۱-۱- ایمنی غیر اختصاصی (ترکیبات مایع)

ساز و کارهای ایمنی مایعات بدن در ماهیان نقش مهمی در همه مراحل رفع یک عفونت دارند. دفاع غیر اختصاصی مایعات بدن ماهی شامل پروتئازها، لیزین ها و آگلوتینین های موجود در ترشحات موکوسی، به عنوان اولین خط دفاعی عمل می کنند. در حالی که سلول های پوشش مخاطی دومین سد دفاعی در برابر تهاجم میکروارگانیسم ها محسوب می شوند. مواد گوناگون ضد میکروبی مانند تریپسین، لیزوزیم، آگلوتینین ها، عامل مکمل، پروتئین فاز حاد و دیگر عوامل لیز کننده در سرم و در موکوس پوست، آبشش ها و روده از جمله عواملی بوده که به عنوان اولین خط دفاعی در ماهی عمل کرده و مانع از چسبیدن و تثبیت میکروارگانیسم ها بر سطوح پوششی خارجی (پوست و آبشش ها) و داخلی (مجرای گوارشی) می شوند. این مواد به طور غیر اختصاصی از رشد و تکثیر عوامل عفونی بیماریزا مثل باکتری ها، قارچ ها، انگل ها و ویروس ها جلوگیری می کنند. این ترکیبات اغلب از نوع پروتئینی یا گلیکوپروتئین بوده و ترکیبات مشابه آنها و یا پیش ساز آنها نیز در همولنف بی مهرگان وجود دارد (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۶-۱-۱-۱- لیزوزیم

لیزوزیم یک نوع واکنش ایمنی غیر اختصاصی است که توسط گلبول های سفید منتشر و در بافت های مختلف و خون ترشح می شود. لیزوزیم قادر به شکستن پیوندهای گلیکوزیدی لایه پپتید و گلیکان

موجود در دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت است. در واقع لیزوزیم یک پلی پپتید ۱۲۰ اسیدامینه ای در ماهیان است که موجب هیدرولیز زنجیرهای بتای ۱ تا ۴ ان استیل مورامیک اسید می شود. این ترکیبات در دیواره سلولی بسیاری از باکتری های گرم مثبت و منفی وجود دارند و بخشی از موکوپپتیدهای دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت اند که در نتیجه هیدرولیز آنها دیواره سلولی باکتریها سوراخ و باکتری ها منهدم می شوند. همچنین لیزوزیم موجب هیدرولیز ترکیبات گلیکوکیتینی می شود، اما روی کیتین اثر کمتری دارد. قابل ذکر است که این ترکیبات کیتینی در دیواره سلولی قارچ ها و اسکلت خارجی بی مهرگان وجود دارند.

لیزوزیم توسط نوتروفیل ها و مونوسیت ها و به مقدار کمتری توسط ماکروفاژها تولید می شود. فعالیت مطلوب لیزوزیم ماهیان در pH ۵/۵ تا ۷/۵ است و در pH با دامنه ۴/۸ تا ۹/۲ نیز فعالیت آنها ذکر شده است (سلطانی، ۱۳۸۷).

عوامل موثر در میزان لیزوزیم عبارتند از:

۱- فصل

۲- مرحله بلوغ جنسی

۳- جنسیت ماهی

۴- دمای محیط

۵- تحریک آنتی ژنی که موجب افزایش آن شود.

۶- گونه ماهی

۷- استرس که موجب کاهش میزان آن می شود.

۸- مصرف محرک های ایمنی نظیر گلوکان ها (سلطانی، ۱۳۸۷؛ Sakai, 1999).

در ماهیان لیزوزیم اغلب در بافت های غنی از گلبول های سفید مانند قسمت قدامی کلیه و بافت های پوست، آبشش و دستگاه گوارش یافت می شود و اتفاقاً این محل ها در ماهیان بیشتر از سایر مناطق مورد تهاجم باکتری ها قرار می گیرند. بنابراین لیزوزیم نقش مهمی برای مواجهه با عوامل بیماریزای عفونی در ماهیان ایفا می کند. در برخی از ماهیان نظیر ماهیان خاویاری لیزوزیم در سطح بالایی است. با مقایسه اثرات ضد باکتریایی لیزوزیم های ماهیان با لیزوزیم سفیده تخم مرغ، مشخص گردید که لیزوزیم ماهیان اثرات ضد باکتریایی بیشتری دارد. این یافته بیانگر نقش مهم عوامل ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان هست (سلطانی، ۱۳۸۷).

در خصوص تاثیر سموم ارگانوفسفره مانند دیازینون و مالاتیون بر میزان لیزوزیم فیل ماهی مطالعات گسترده ای انجام گرفته است که نتایج حاکی از تغییرات قابل توجهی در برخی واکنش های ایمنی از جمله کاهش لیزوزیم، کاهش جمعیت گلبول های سفید و کاهش قدرت انفجار تنفسی شده است (Khoshbavar-Rostami et al., 2006a ; Soltani et al., 2007).

۱-۶-۲- ایمنی غیر اختصاصی (سلولی)

واکنش های التهابی و واکنش های ناشی از فعالیت های گرانولوسیت ها، منوسیت ها و لنفوسیت ها ساز و کارهای دفاع ایمنی غیر اختصاصی سلولی را در ماهیان تشکیل می دهند که در پاسخ به شرایط مختلفی مانند عفونت های باکتریایی، ویروسی، قارچی، تک یاخته ای و انگلی به وقوع می پیوندند. علاوه بر این، اعتقاد بر این است که سلول های سیتوتوکسیک غیر اختصاصی که در ماهی وجود دارند همتای سلول های کشنده طبیعی در پستانداران هستند. سلول های اپیتلیال پوست و روده نیز در اولین مرحله دفاع در برابر عوامل بیماریزا اهمیت دارند (سلطانی، ۱۳۸۷).

سلول های فاگوسیت کننده ماهیان شامل نوتروفیل ها، ماکروفاژها، لنفوسیت ها، منوسیت ها، ترومبوسیت ها، بازوفیل ها و ائوزینوفیل ها می باشند که بیشترین نقش را در ماکروفاژها و بعد نوتروفیل ها بر عهده دارند. بیگانه خوارها نقش مهمی در ساز و کارهای دفاعی همه مهره داران بازی

می کنند. پاک شدن ذرات خارجی از خون ماهی به صورت یک پدیده دو مرحله ای است که در مرحله اول اغلب (بیش از ۹۰ درصد) مواد طی نیم ساعت و بقیه به طور آهسته تری پاک می شوند. بیگانه خواری در ماهی توسط لکتین ها، پروتئین فاز حاد، عامل مکمل و آنتی بادی ها افزایش پیدا می کند. بیگانه خواری از راه مراحل شناسایی، چسبیدن، بلع، کشتن و هضم در روندی مشابه با پستانداران پیش می رود (سلطانی، ۱۳۸۷).

١-٦-١-٢-١- لنفوسیت ها

لنفوسیت، سلول خونی کوچکی است که هسته ای بزرگ و سیتوپلاسم کمی دارد. هسته قسمت اعظم سلول را پر می کند و شبکه کروماتینی مشخصی دارد (تاکاشیما و هایبیا، ۱۹۹۴). فقط حاشیه باریکی از سیتوپلاسم بازوفیلی دیده می شود که در آن میتوکندری و ریبوزوم های کمی وجود دارد. تعداد لنفوسیت ها در بین گونه ها و براساس روش های شمارش متفاوت است (ستاری، ۱۳۸۱).

لنفوسیت ها در جریان خون و ارگان های لنفوبیدی مانند تیموس، طحال، کلیه و جریانات لنفاتیک حضور دارند. مطالعات انجام شده در ارتباط با لنفوسیت های ماهیان بیانگر این موضوع می باشد که علیرغم تفاوت های بین گونه ها لنفوسیت دارای خصوصیات ریخت شناسی مشابه هستند (Houston, 1990).

این سلول ها از سلول های مهم ایمنی بوده که به طور واضح هر دو نوع پاسخ ایمنی اختصاصی هومورال و با واسطه سلولی اند. دو دسته عمده آنها عبارتند از: سلول های B که در اندام های غیر از تیموس مانند بخش قدامی کلیه، طحال و قسمت قدامی قلب و شاید در کبد تولید و تمایز می یابند و سلول های T که در تیموس تمایز می یابند و مسوول ایمنی با واسطه سلولی اند. این سلول ها از نظر ساختمانی خیلی شبیه به یکدیگرند. سلول های B قابل تبدیل به پلاسماسل ها هستند و در تولید آنتی بادی دخالت دارند. سلول های T در کنترل پاسخ های ایمنی دخالت دارند. این دو نوع لنفوسیت به علت وجود آنتی ژن های ویژه در غشای سلولی قابل تشخیص می باشند. غشای سلول های B ایموگلوبولین سطحی را تولید می کند که در واقع جایگاه شناسایی آنتی ژن توسط لنفوسیت است. در صورتی که سلول های T گیرنده های سلول T را تولید می نمایند. عملکرد این دو نوع سلول، اتصال آنتی ژن های ویژه توسط پروتئین های سطحی مربوط به خود است. ماهیان دارای سلول های T مشتق از تیموس هستند (سلطانی، ۱۳۸۷).

معمولاً" تعداد لنفوسیت ها در خون ماهی، به استثنای گلبول های قرمز از سایر سلول ها بیشتر می باشد. تعداد آنها در حالات مختلف ماهی و به خصوص در هنگام بیماری ها تفاوت دارد (ستاری، ۱۳۸۱).

١-٦-١-٢-٢-٢-نوٲروٲل ھا

اکثر ماهیان دارای این نوع سلول می باشند. این سلول ها در ماهیان بیشترین گلبول های سفید چند هسته ای را تشکیل می دهند. معمولاً "هسته آنها کروی یا کلیوی شکل یا گاهی دو قطعه ای می باشد. در بسیاری از گونه ها دانه های داخل سیتوپلاسمی، کمی ائوزینوفیلی هستند. در رنگ آمیزی سیتوپلاسم آنها به رنگ بنفش و خاکستری و گرانول ها به رنگ های خاکستری یا آبی متمایل به بنفش، قرمز متمایل به بنفش و به شکل مدور دیده می شوند (Stoskopf, 1993).

وظیفه نوتروفیل ها دفاع علیه عفونت های باکتریایی است. این سلول ها قدرت حرکت زیادی به سمت نواحی عفونی دارند. در حالت طبیعی تعداد زیادی از این سلول ها در بافت های لنفاوی کلیه برای فوریت های ویژه و مواقع ضروری ذخیره می گردند. در اثر تحریکات تورمی این سلول ها به جریان خون مهاجرت و به نواحی صدمه دیده تورمی نفوذ می کنند. بنابراین نفوذ نوتروفیل ها در بسیاری از بیماری های عفونی در مرحله حاد تورم رخ می دهد. این سلول ها به باکتری به صورت اندوسیتوز

یعنی بیگانه خوار حمله می نمایند. سپس باکتری ها توسط فاگوزوم های داخلی آنها کشته و هضم می گردند. آنزیم های داخل دانه های سیتوپلاسم مثل پروکسیداز، اسید فسفاتاز و استرازهای غیر اختصاصی به داخل فاگوزوم ها رها شده و اساس عمل آنها بر هضم و جذب باکتری ها می باشد (تاکاشیما و هایبیا، ۱۹۹۴).

۱-۶-۱-۳- انوزینوفیل ها

انوزینوفیل ها از نظر اندازه مشابه نوتروفیل ها یا به مقدار جزئی کوچکتر از آنها هستند. اندازه آنها در ماهیان بین ۱۰-۴/۵ میکرون متغیر است (Stoskopf, 1993). مکان اصلی ساخت و شکل گیری آنها طحال، تیموس و سایر بافت های لنفاوی می باشد (بهمنی، ۱۳۷۸). این سلول ها معمولاً "مدور بوده و سیتوپلاسم آنها حاوی گرانول هایی است که با رنگ های اسیدی واکنش داده و به رنگ نارنجی متمایل به قرمز با زمینه نارنجی متمایل به بنفش می باشد (Kumar and Tembhre, 1998). گرانول ها به صورت پراکنده در سلول وجود دارند و اندازه و شکل آنها در گونه های مختلف و گاهی در بین سویه های مختلف یک گونه نیز متغیر است. قدرت بیگانه خواری آنها در مقایسه با نوتروفیل ها محدودتر است (Stoskopf, 1993).

۱-۶-۱-۴- مونوسیت ها

کمترین تعداد گلبول های سفید متعلق به مونوسیت ها می باشد و تعداد آنها حداکثر ۲ درصد در ماهیان گزارش شده است (Kumar and Tembhre, 1998). این سلول ها بزرگترین و بی شکل ترین سلول های خونی می باشند. سیتوپلاسم آنها بازوفیلی کم رنگ و اغلب دارای فاگوزوم می باشد. در ماهیان مونوسیت های خونی عمل ماکروفاژی دارند. بنابراین گاهی این سلول ها را ماکروفاژ خونی نیز می نامند (تاکاشیما و هایبیا، ۱۹۹۴). اصطلاح ماکروفاژ برای شرح سلول های حاوی یک یا چند هسته جدا از هم استفاده می شود که قادرند ذرات ۱ تا ۱۰ میکرونی را بلعیده و محیط اطرافشان را توسط ترشحات خود اصلاح کنند. ماکروفاژها بیگانه خوارهای عمده ماهی اند و به شدت نسبت به مواد بی جان و مواد آنتی ژنی فاگوسیت کننده اند (سلطانی، ۱۳۸۷). مواد خارجی که توسط این سلول ها گرفته می شوند، با آنزیم های هیدرولیتیک لیزوزیم های آنها کشته شده و سپس هضم می شوند. همچنین این سلول ها به عنوان سلول های خنثی کننده آنتی ژن نیز عمل می کنند (تاکاشیما و هایبیا، ۱۹۹۴).

۱-۶-۲- ایمنی اختصاصی

واکنش ایمنی اختصاصی دارای دو بازوست: ایمنی هومورال (تولید کننده آنتی بادی) و ایمنی با واسطه سلولی. سلول های حساس در برابر آنتی ژن ها مشتمل بر دو گروه لنفوسیت های B که در تولید پلاسماسل ها و تولید آنتی بادی نقش دارند و لنفوسیت های T که موجب ایمنی سلولی می شوند (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۶-۲-۱- ایمنی هومورال

۱-۶-۲-۱-۱- ایمونوگلوبولین M (IgM)

ایمونوگلوبولین ها در ماهیان همگی جزو ماکروگلوبولین ها هستند. ماهیان ایمونوگلوبولین مشابه IgG جانوران عالی را نداشته یا کمی از آن را دارند. در ماهیان فاقد فک ایمونوگلوبولین تنها به میزان کمی وجود دارد و به خوبی شناسایی نشده اند. در ماهیان فکدار ایمونوگلوبولین از نوع IgM و دارای یک زنجیر سنگین مشابه μ پستانداران است. ایمونوگلوبولین در ماهیان غضروفی مانند کوسه ها و دودی ها مانند ماهیان شش دار به صورت یک مولکول پنج واحدی و مانند سایر مهره داران است،

در حالیکه در ماهیان رده خاربالگان به صورت چهار واحدی می باشد. هر مولکول ایمونوگلوبولین در ماهیان استخوانی از نظر ساختمانی تترامر بوده و شامل دو ناحیه اتصال به آنتی ژن یعنی انتهای آمینی و ناحیه تاثیر گذار انتهای کربوکسی است که در مجموع ۴ زیر واحد مونومری را تشکیل می دهد. هر واحد مونومری دارای ۲ زنجیره پروتئینی سنگین H با وزن مولکولی ۶۰-۷۲ کیلو دالتون و ۲ زنجیره سبک L با وزن مولکولی ۲۶-۲۲ کیلو دالتون است (سلطانی، ۱۳۸۷).

وزن مولکولی هر یک از زنجیره ها و نیز وزن مولکولی ایمونوگلوبولین بسته به گونه و جنس ماهی مقداری متفاوت است. در ماهی کپور علفخوار مشخص شده است که این گونه شاید دارای بیش از یک نوع ایمونوگلوبولین با وزن های مولکولی ۴۸۰ و ۶۴۰ کیلودالتون باشد (Soltani et al., 2003).

مطالعه بر روی وزن مولکولی زنجیره های سبک و سنگین و ایمونوگلوبولین M پنج گونه ماهیان خاویاری شامل تاس ماهی ایرانی، تاس ماهی روسی، فیل ماهی، شیپ و ازون برون نشان می دهد که این ماهیان دارای زنجیره سبک با وزن مولکولی ۲۳-۳۰ کیلو دالتون و زنجیره سنگین با وزن مولکولی ۷۷-۸۴ کیلو دالتون می باشند. علاوه بر این وزن مولکولی ایمونوگلوبولین در هر پنج گونه به تقریب یکسان و برابر ۸۷۰ کیلو دالتون است. این یافته ها با وزن مولکولی ایمونوگلوبولین تاس ماهی سفید به تقریب برابر و حکایت از فیلوژنی یکسان این ماهیان در قاره های آسیا و آمریکا دارد (Khoshbavar-Rostami et al., 2006b).

ایمونوگلوبولین ها دارای وظایف و عملکردهای مهمی هستند که از آن جمله می توان به موارد ذیل اشاره نمود:

۱- خنثی سازی

۲- رسوب و آگلوتیناسیون

۳- خاصیت اپسونیزاسیون (فعالیت عامل مکمل در طی فاگوسیتوز توسط نوتروفیل ها و ماکروفاژها)

۴- فعال کردن عامل مکمل (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۲-۶-۲- ایمنی با واسطه سلولی

لنفوسیت ها به طور واضح مسوول هر دو نوع پاسخ ایمنی اختصاصی هومورال و با واسطه سلولی اند. دو نوع عمده از لنفوسیت ها عبارتند از: سلول های T که در تیموس تمایز می یابند و مسوول ایمنی با واسطه سلولی اند و سلول های B که در اندام های غیر از تیموس مانند بخش قدامی کلیه، طحال و قسمت قدامی قلب و شاید کبد تولید و تمایز می یابند (سلطانی، ۱۳۸۷).

۱-۷- اهمیت مطالعه خون

Meinertz در سال ۱۸۰۰ میلادی برای اولین بار مطالعات خون شناسی را روی سلول های خونی پرندگان، خزندگان و ماهیان انجام داد. از سال ۱۹۷۰ تحول عظیمی در مطالعات خون شناسی ماهیان صورت گرفت (بهمنی، ۱۳۷۸).

شناخت فاکتورهای خونی علاوه بر شناخت فیزیولوژی آبی شاخص مهم و منحصر به فرد هر گونه است که آن را از سایر ماهیان متمایز می کند. اهمیت این شناخت نه تنها در تشخیص گونه مهم است بلکه از نظر اقتصادی نیز می تواند در شناسایی بیماری ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (Bahmani et al., 2001; Abdel-Tawwab et al., 2005).

تغییرات در شاخص های خونی ماهی که به خاطر صدمات یا عفونت بعضی از اندام ها اتفاق می افتد را می توان جهت بررسی و تایید عدم آلودگی استفاده نمود. بنابراین در ماهیان شاخص های خونی در ارتباط با پاسخ همه اندام ها از قبیل اثر روی زنده ماندن ماهی، تکثیر و رشد هستند. اگرچه مکانیسم های واکنش فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نسبت به عوامل خارجی به اندازه کافی بررسی نشده، اما روشن است که انواع متفاوتی از آنها در ماهیان وجود دارد (Ross and Ross, 1999).

خون به عنوان یک بافت سیال یکی از مهمترین مایعات زیستی بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می گردند. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی شاخص های خونی و بررسی چگونگی تغییرات آنها در بیماری های مختلف همواره از ابزار مهم تشخیص در بسیاری از بیماری های ماهیان بوده است (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۰). به طور کلی اتفاق نظر محققین بر این است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه های مختلف با هم تفاوت داشته، ارتباط و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه ای، سن و... دارد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶). بافت خون شاخص مهمی برای وضعیت فیزیولوژیک اندام های بدن در تشخیص سلامت یا بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده بوده و تجزیه و تحلیل شاخص های خونی راهنمای ارزشمندی در سنجش وضعیت زیستی آبزیان می باشد (بهمنی، ۱۳۷۷). خون بافتی سیال است که سایر بافت ها را به یکدیگر مرتبط می نماید. معمولاً "خون ماهیان نسبت به سایر مهره داران کمتر است. بعضی محققان اشاره کرده اند که حجم خون در بین کل ماهیان به صورت فیلوژنتیکی کاهش می یابد. ماهیان استخوانی عالی تر دارای دستگاه عروقی کامل تری هستند. به همین دلیل به خون کمتری جهت انتقال اکسیژن نیاز دارند (ستاری، ۱۳۸۱). بافت خون متشکل از دو بخش شامل پلاسما و عناصر سلولی می باشد. پلاسما حاوی ترکیبات مختلفی از جمله آب، یون ها، هورمون ها، ویتامین ها، پروتئین های مختلف نظیر (گلوبولین ها، آلبومین و ترانسفرین)، گلوکز، لیپیدها (مانند کلسترول و تری گلیسیرید) و ترکیبات دیگر است (ستاری، ۱۳۸۱؛ تاکاشیما و هایبیا، ۱۹۹۴).

۱-۷-۱- شاخص های خونی

۱-۷-۱-۱- هماتوکریت

هنگامی که خون کامل دارای ماده ضد انعقاد سانتریفوژ می شود، فضایی که توسط گلبول های قرمز فشرده شده اشغال می شود را هماتوکریت می گویند که به صورت درصد گلبول های قرمز خون نسبت به خون کامل بیان می شود. به عبارت دیگر هماتوکریت یک نمونه خون، نسبت حجم گلبول های قرمز به حجم کل خون است. مقادیر هماتوکریت کاملاً به موازات مقادیر و تعداد گلبول های قرمز خون است. مقادیر عادی هماتوکریت مانند هموگلوبین و تعداد گلبول های قرمز تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند سن، جنس، نژاد، محیط و... قرار دارند (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

۱-۷-۱-۲- هموگلوبین

هموگلوبین کروموپروتئینی است که جز اصلی گلبول قرمز را تشکیل می دهد و رنگ قرمز خون بستگی به وجود آن دارد. سنتز آن در مغز استخوان و توسط سلول های رده اریتروئید یا خونساز صورت می گیرد. عمل اصلی هموگلوبین انتقال اکسیژن از ریه ها که دارای فشار بالای اکسیژن هستند به بافت ها که فشار اکسیژنی پایین دارند، می باشد (ستاری، ۱۳۸۱). هر گرم هموگلوبین هنگامی که کاملاً اشباع شده باشد، $1/34$ میلی لیتر اکسیژن را حمل می کند. هموگلوبین از چهار گروه مولکولی به نام هم (Heme) تشکیل شده که حاوی آهن به صورت دو ظرفیتی یا فرو است و یک مولکول گلوبین که خود از دو جفت زنجیر پلی پپتیدی آلفا و بتا تشکیل شده است. مولکول های هم (Heme) در جایگاه مخصوصی از مولکول گلوبین و به گونه خاصی قرار گرفته اند تا موجب تسهیل در جذب و حمل و نقل اکسیژن گردند. هموگلوبین دارای اکسیژن را اکسی هموگلوبین و فاقد اکسیژن را دزوکسی هموگلوبین می گویند. اندازه گیری غلظت هموگلوبین در خون را اصطلاحاً "هموگلوبینومتری می نامند و آن را بر حسب گرم در دسی لیتر گزارش می کنند. غلظت هموگلوبین خون تحت تاثیر نژاد، سن، جنس، شرایط محیطی تغذیه ای و فصل قرار دارد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

۱-۷-۳- گلبول های قرمز خون (RBC)

گلبول های قرمز یا اریتروسیت ها بیشترین فراوانی را در بین سلول های خونی دارند. تولید سلول های خونی در ماهیان، در مناطق مختلفی از بدن صورت می گیرد. گلبول های قرمز در بیشتر ماهیان عمدتاً در کلیه و طحال ساخته می شوند. معمولاً راس کلیه مهم ترین محل تولید آنهاست. وظیفه عمده آنها حمل اکسیژن از آبشش ها به بافت هاست (ستاری، ۱۳۸۱).

این سلول ها بیضی شکل بوده و دارای هسته می باشند. هسته آنها بیضی شکل و دارای دانه های کروماتینی است. این سلول ها در دهان گردان مدور می باشد. سیتوپلاسم سلول های بالغ به خاطر دارا بودن مقادیر زیادی هموگلوبین، اسیدوفیلی می باشد. تعداد و اندازه گلبول های قرمز در گونه های مختلف ماهیان تفاوت قابل ملاحظه ای دارند. اندازه محور بزرگ آنها ۱۰ تا ۱۵ میکرون و محور کوچک آنها ۸ تا ۱۲ میکرون و تعداد آنها در هر میلی متر مکعب ۱ تا ۳ میلیون می باشد. جمعیت گلبول های قرمز در خون محیطی ماهیان را عمدتاً گلبول های قرمز بالغ تشکیل می دهد. ولی معمولاً تعدادی از سلول های نابالغ نیز دیده می شوند. تعداد سلول های نابالغ در خون برحسب نوع ماهی، سن، جنس و حالات محیطی متفاوت است (تاکاشیما و هایبیا، ۱۹۹۴). تعداد آنها با افزایش سن کمتر و در فصل جفتگیری دوباره افزایش می یابد (وئوقی و مستجیر، ۱۳۸۸).

۱-۷-۴- گلبول های سفید خون (WBC)

گلبول های سفید نسبت به گلبول های قرمز از فراوانی کمتری برخوردارند و معمولاً تعداد آنها در بیشتر ماهیان کمتر از ۱۵۰۰۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب خون است. گلبول های سفید خون نقش مهمی را در تعیین عملکرد سیستم ایمنی ماهیان ایفا می نمایند. گلبول های سفید در خون ماهیان به دو دسته تقسیم می شوند:

- ۱- گرانولوسیت (دانه دار بوده و هسته چند قسمتی دارند) شامل نوتروفیل یا هتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل می باشند.
- ۲- آگرانولوسیت (فاقد دانه بوده و هسته تک قسمتی دارند) شامل لنفوسیت و مونوسیت می باشند (ستاری، ۱۳۸۱).

۱-۷-۵- شاخص های گلبول قرمز یا اندیس های خونی

مهمترین این شاخص ها عبارتند از: متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) که از طریق روابط ریاضی ذیل محاسبه می شوند: (Houston, 1990)

$$MCV = \frac{\text{Hematocrit}}{RBC (\text{million} / \text{mm}^3)} \times 10$$

$$MCH = \frac{\text{Hemoglobin} (g / dcl)}{RBC (\text{million} / \text{mm}^3)} \times 10$$

$$MCHC = \frac{\text{Hemoglobin} (g / dcl)}{\text{Hematocrit}} \times 100$$

۱-۷-۲- شاخص های بیوشیمیایی

۱-۷-۲-۱- پروتئین کل و آلبومین

دو گروه عمده از پروتئین ها در خون وجود دارند که عبارتند از آلبومین ها و گلوبولین ها که در اصطلاح به مجموع این دو پروتئین کل اطلاق می شود. آلبومین سرم فراوانترین پروتئین پلاسما می باشد. این پروتئین در انتقال اسیدهای چرب نیز نقش دارد، هر مولکول آلبومین می تواند تا ۱۰ مولکول اسید چرب آزاد را با خود حمل نموده و در بافت های مصرف کننده آزاد نماید. آلبومین ها اساساً در کبد ساخته شده و از خارج شدن خون از رگ های خونی جلوگیری می کنند. آلبومین همچنین به انتقال برخی مواد دارویی از طریق خون کمک کرده و در نتیجه در رشد و بهبود بافت ها موثر است. گلوبولین ها از انواع مختلفی از پروتئین ها از جمله آلفا، بتا و گاما ساخته شده است. برخی از گلوبولین ها به هموگلوبین متصلند. سایر گلوبولین ها در انتقال فلزاتی نظیر آهن در خون موثر بوده و علیه عوامل بیماریزا وارد عمل می شوند (دانپال زاده و همکاران، ۱۳۸۵). مهمترین نقش پروتئین های پلاسما حفظ فشار اسمزی به دلیل حضور آلبومین، انتقال مواد معدنی، هورمون ها، دفاع در برابر عوامل بیماریزا، انعقاد خون و عملکرد تغذیه ای است (Rehulka et al., 2005).

۱-۷-۲-۲- فشار اسمزی سرم خون

غلظت اسمزی خون ماهیان بر حسب محل زیست و روش های تنظیم فشار اسمزی در هر گونه متغیر است و در ماهیان از ۲۰۰ میلی اسمول در ماهیان آب شیرین تا بیش از ۴۰۰ میلی اسمول در ماهیان دریایی متغیر است. در سایر ماهیان خصوصاً در گونه های رودکوچ، غلظت اسمزی در حدود ۳۲۵ میلی اسمول است. یون های سدیم و کلر از نظر غلظت یون های اصلی را تشکیل می دهند و پس از آنها یون های پتاسیم، کلسیم و منیزیم و نیز اوره و اسیدهای آمینه آزاد قرار دارند (ستاری، ۱۳۸۱). تنظیم اسمزی فرایندی است که بر اثر آن الکترولیت های موجود و حجم آب بدن جانور به صورت نسبتاً ثابتی نگهداری می شود، بطوریکه فشار اسمزی مایعات بدن ماهیان آب شیرین بیشتر (هیپراسموتیک) و فشار اسمزی مایعات بدن ماهیان آب شور کمتر از فشار اسمزی محیط (هیپوسموتیک) می باشد. تراکم اسمزی محلول را می توان بر حسب اسمولاریته (اسمول در لیتر) بیان کرد که بستگی به تعداد ذرات محلول دارد و می توان بدون اطلاع از ماهیت مواد محلول آن را تعیین نمود (نیلسن، ۱۹۹۷).

هر ماده ویژگی خاصی را در مولکول خود دارد و بر همان اساس نقطه انجماد ویژه ای را دارا می باشد. زیرا نقطه انجماد وابسته به اجزای تشکیل دهنده آن ماده است و به طبیعت و شکل آن بستگی ندارد. پس نقطه انجماد هر ماده غلظت آن را نشان می دهد. از این رو هر مولکول گرم یک ماده مساوی یک اسمول (هر اسمول برابر است با فشار اسمزی غلظت یک مولار محلول غیر الکترولیت) می باشد که دارای نقطه انجماد $1/86$ - درجه سانتی گراد بوده و به همین دلیل دستگاه های اندازه گیری اسمولاریته را از طریق انجماد بر حسب میلی اسمول در لیتر نشان می دهند (کرایوشکینا، ۱۹۹۹). مطالعه تکامل عمل تنظیم اسمزی در طی رشد ماهیان خاویاری به علت قدمت و تنوع بوم شناختی به عنوان ماهیانی فوق العاده جالب برای پژوهش های مقایسه ای و فیزیولوژیک و حل مشکلات تکثیر و پرورش از اهمیت شایانی برخوردار است (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۱).

تاس ماهیان جوان جهت تطبیق فشار اسمزی داخلی خود با محیط بیرونی ممکن است برای یک دوره چند روزه تا ۲ الی ۳ سال در رودخانه ها باقی بمانند و سپس مهاجرت نمایند (Krayushkina et al., 1996).

بر خلاف اسمولت های آزاد ماهیان، مهاجرت تاس ماهیان محدود به زمان خاص نیست و به وضعیت خاص فیزیولوژیک رشد و نمو بستگی ندارد. به هر حال مدت زمان اقامت تاس ماهیان جوان در آب لب شور دهانه رودخانه، بستگی به میزان رشد و نمو ریختی این ماهیان دارد. ماهیان خاویاری

کوچکتر دوره های طولانی تری را در آب با شوری ۵ تا ۶ میلی گرم در میلی لیتر می گذرانند البته این در حالیست که بچه تاس ماهیان با وزن حدود ۰/۳ تا ۰/۵ گرم بیش از یک ماه در شوری فوق باقی بمانند. به هر حال تاس ماهیان جوان آنقدر در طول ساحل حرکت می کنند تا به مناطقی با شوری بالاتر برسند (Krayushkina and Semenova, 2006).

تغییرات اسمولاریته خون طی دو مرحله رخ می دهد: در مرحله نخست، اسمولاریته سرم خون در طول مدت نخستین روز پس از انتقال تا زمانی که سرم خون تقریباً "هم غلظت با محیط شود، افزایش می یابد. در مرحله دوم اسمولاریته سرم خون مجدداً "به سطح نزدیک به غلظت اسمولاریته محیط ماهی در آب شیرین کاهش می یابد (Krayushkina et al., 1996).

نقش آبشش ها و کلیه در تنظیم اسمولاریته خون تقریباً "به طور کامل مشخص شده است. تراوش یون های سدیم و کلراید در ماهیان استخوانی دریایی توسط سلول های ترشحی کلراید در آبشش ها انجام می شود (Maetz and Bornancin, 1975). سلول های مشابهی نیز در غشای آبششی ماهیان خاویاری مشاهده گردید (Krayushkina and Vasilava, 1975).

مقایسه مقادیر یون های منیزیم و کلسیم در سرم خون و محیط زندگی تاس ماهیان حاکی از آن است که ماهیان خاویاری خود به تنظیم این یون ها می پردازند (Krayushkina et al., 1996).

فصل دوم:

پیشینه

تحقیق

۱-۲- تحقیق های انجام گرفته در ایران

۱- اخلاقی و انبارکی مطلق (۱۳۸۳) تغییرات بیگانه خواری در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* را با استفاده از محرك هاي ایمنی کوییل آ و لوامیزول بررسی کردند.

۲- اکرمی و همکاران (۱۳۸۷) تاثیر سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پربیوتیک اینولین درجیره غذایی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را بر شاخص های رشد ارزیابی نمودند.

۳- اوجی فرد و همکاران (۱۳۸۷) تاثیر میزان ۲ درصد پربیوتیک اینولین را بر ترکیب اسیدهای چرب عضله میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) آزمایش کردند.

۴- شیخ الاسلامی و همکاران (۱۳۸۷) سطوح ۰/۵ و ۲ درصد پربیوتیک اینولین درجیره غذایی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را بر میزان لیوزیم، IgM و نیز مقاومت در برابر باکتری استرپتوکوک ارزیابی نمودند.

۵- Akrami و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پربیوتیک اینولین را بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، فلور روده و برخی از شاخص های خونی فیل ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) مورد بررسی قرار دادند.

۶- نوروزی و همکاران (۱۳۸۹) اثرات سطوح ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد پربیوتیک Active MOS را بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و میزان غلظت هورمون کورتیزول قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مطالعه نمودند.

۷- کریم زاده و همکاران (۱۳۸۹) اثرات سطوح ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد پربیوتیک Active MOS را بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و درصد تلفات بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) بررسی نمودند.

۲-۲- تحقیق های انجام گرفته در جهان

۱-۲-۲- مطالعات انجام شده با مانان الیگوساکارید (MOS)

۱- Pryor و همکاران (۲۰۰۳) شاخص های رشد را بین گروه شاهد و گروه تغذیه شده با دز ۰/۳ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) در تاس ماهی خلیج مکزیکی (*Acipenser oxyrinchus*) بررسی نمودند.

۲- Staykov و همکاران (۲۰۰۷) اثر سطح ۰/۲ درصد مکمل مانان الیگوساکارید (MOS) به جیره غذایی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را بر فاکتورهای رشد، ماندگاری و شاخص های ایمنی در دو محیط پرورشی قفس و کانال های دراز مطالعه نمودند.

۳- Torrecillas و همکاران (۲۰۰۷) خصوصیات ایمنی و میزان مقاومت باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) تغذیه شده با ۰/۲ و ۰/۴ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) را مورد سنجش قرار دادند.

۴- Welker و همکاران (۲۰۰۷) اثر جیره غذایی حاوی ۲ گرم در کیلوگرم Bio-MOS را بر فاکتورهای رشد، شاخص های خونی و ایمنی گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) ارزیابی کردند.

۵- Grisdale-Helland و همکاران (۲۰۰۸) اثر سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم مانان الیگوساکارید (MOS) را در جیره غذایی بر شاخص های رشد و ترکیب لاشه ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) مورد تحقیق قرار دادند.

۶- Salze و همکاران (۲۰۰۸) آرتمیا و روتیفر غنی شده با دز ۰/۲ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) را در تغذیه لاروهای ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) و اثر آن بر میزان مقاومت و بقا در برابر استرس شوری بررسی نمودند.

۷- Sado و همکاران (۲۰۰۸) اثرات سطوح ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) در جیره غذایی افراد جوان تیلاپیی نیل (*Oreochromis niloticus*) را بر فاکتورهای رشد و شاخص های خونی شامل تعداد گلبول های قرمز و سفید، همتوکریت، هموگلوبین، MCH، MCV و پروتئین کل مورد بررسی قرار دادند.

۸- Andrews و همکاران (۲۰۰۹) اثر سطوح ۱، ۲ و ۴ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) را در جیره غذایی ماهی رو هو (*Labeo rohita*) بر فاکتورهای رشد شامل وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی تغذیه و شاخص رشد ویژه و نیز شاخص های خونی و بیوشیمیایی نظیر تعداد گلبول های قرمز و سفید، هموگلوبین، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین آزمایش کردند.

۹- Torrecillas و همکاران (۲۰۱۰) کارایی تغذیه و ترکیب لاشه باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) تغذیه شده با سطوح ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) را مورد سنجش قرار دادند.

۱۰- Dimitroglou و همکاران (۲۰۱۰) اثرات سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد مانان الیگوساکارید (MOS) را در جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه، بافت و فلور روده مورد بررسی قرار دادند.

۲-۲-۲- مطالعات انجام شده با بتا گلوکان

۱- Jeney and Jeney (۲۰۰۲) اثرات سطوح ۰/۱ و ۰/۵ در صد بتاگلوکان بر مکانیسم های دفاع غیر اختصاصی هیبرید (*Acipenser ruthenus* × *A.baeri*) بررسی کردند.

۲- Cuesta و همکاران (۲۰۰۴) اثرات سطوح ۱، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم مخمر آبجو (S. *cerevisiae*) را در جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) بر میزان IgM سرم خون آزمایش کردند.

۳- Bagni و همکاران (۲۰۰۵) اثرات کوتاه مدت (۱۵ روزه) و طولانی مدت (۶۰ روزه) سطح ۰/۱ درصد ماکروگارد (حاوی بتاگلوکان) را بر واکنش های ایمنی ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) مورد سنجش قرار دادند.

۴- Misra و همکاران (۲۰۰۶) اثرات سطوح ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بتا گلوکان را بر سیستم ایمنی، رشد و بقای بچه ماهیان انگشت قد رو هو (*Labeo rohita*) مورد مطالعه قرار دادند.

۵- Ai و همکاران (۲۰۰۷) اثرات دز کم (۰/۰۹ درصد) و دز زیاد (۰/۱۸ درصد) بتاگلوکان در جیره غذایی را بر واکنش های ایمنی غیر اختصاصی ماهی شوریده زرد بزرگ (*Pseudosciaena crocea*) و نیز ایجاد مقاومت در برابر باکتری *Vibrio harveyi* مطالعه نمودند.

۶- Welker و همکاران (۲۰۰۷) اثر جیره غذایی حاوی ۱ گرم در کیلوگرم ماکروگارد (حاوی بتا ۱ و ۳ گلوکان) را بر فاکتورهای رشد، شاخص های خونی و ایمنی گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) مورد ارزیابی قرار دادند.

فصل سوم:

مواد و روش ها

۱-۳- مکان و زمان انجام تحقیق

مطالعه و اجرای این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر، بخش تکثیر و پرورش و بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، اداره کل دامپزشکی استان گیلان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی از مرداد تا بهمن ۱۳۸۷ انجام گرفت.

۱-۱-۳- مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر

در سال ۱۳۵۰ این مرکز در ۲۵ کیلومتری جنوب شرقی شهر رشت در حاشیه رودخانه سفیدرود و در مجاورت سد سنگر تاسیس گردید. این مرکز در مختصات جغرافیایی ۴۹ درجه و ۴۲ دقیقه عرض شمالی و ۳۷ درجه و ۶ دقیقه طول شرقی در ارتفاع متوسط ۸ متر از سطح آزاد دریا واقع شده است.

۲-۱-۳- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

نظر به اهمیت انجام تحقیق در زمینه ماهیان ارزشمند خاویاری در دریای خزر و به منظور متمرکز کردن فعالیت های تحقیقاتی در این زمینه، در سال ۱۳۷۳ این مکان به عنوان یکی از مراکز تخصصی موسسه تحقیقات شیلات ایران در مجاورت مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی و در نزدیکی سد سنگر در ۲۵ کیلومتری جنوب شرقی شهر رشت ایجاد گردید.

۲-۳- مخازن پرورشی

در این تحقیق ۱۵ عدد مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری به ابعاد $۵۳/۰ \times ۲ \times ۲$ متر در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر مورد استفاده قرار گرفتند. در ابتدا مخازن به طور کامل شستشو شده و سپس آب مورد استفاده در تمام دوره پرورش به طور یک طرفه و به صورت فواره ای از بالای حوضچه ها وارد شده و از خروجی مرکزی آنها تخلیه شد. حجم آب تمامی مخازن با یکدیگر مساوی و برابر با ۱۲۰۰-۱۰۰۰ لیتر بود که به طور مداوم تعویض شد. منبع تامین کننده آب مخازن، آب سالن و نیروی مرکز تکثیر بود که از آب رودخانه سفیدرود (پس از فیلتراسیون و هوادهی) تامین گردید. داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوا کار گذاشته شد که توسط شلنگ مخصوص هوادهی به دستگاه هواده متصل بود تا اکسیژن مورد نیاز تامین گردد.

۳-۳- ذخیره سازی و سازگاری بچه ماهیان

تعداد ۴۵۰ عدد بچه فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) پس از زیست سنجی (اندازه گیری وزن و طول کل) و تعیین بیومس (زیتوده) با میانگین وزنی ۵۰-۴۰ گرم انتخاب و با تراکم ۳۰ عدد (در هر حوضچه) به ۱۵ حوضچه معرفی شدند. سپس کار سازگاری بچه ماهیان با جیره پایه به صورت پلت و براساس حداکثر ۴٪ وزن توده زنده در ۴ نوبت (۲ بامداد، ۸ صبح، ۱۴ عصر و ۲۰ شب) به مدت یک ماه انجام گرفت (پورعلی و همکاران، ۱۳۸۲؛ Mohseni et al., 2006).

جیره پایه براساس فرمولاسیون تغذیه بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان شامل ۴۲٪ پروتئین، ۱۵٪ چربی، ۱۰٪ خاکستر، ۶٪ رطوبت، ۲/۴ فیبر و ۳۰/۵٪ عصاره عاری از نیتروژن (NFE) با سطح انرژی خام ۳۵۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم تهیه شد (AOAC, 1995).

پس از گذشت یک ماه از سازگاری بچه فیل ماهیان و زیست سنجی تمام جمعیت مورد مطالعه، تیمار بندی در قالب طرح کاملاً تصادفی (۵ تیمار هر کدام دارای ۳ تکرار) براساس تیمارهای آزمایشی شامل سه حوضچه شاهد با میانگین وزنی $۹۵/۰۸ \pm ۱۰/۳۰$ گرم، سه حوضچه ایمواستر

۱٪ با میانگین وزنی $96/32 \pm 9/82$ گرم، سه حوضچه ایمنووال ۱٪ با میانگین وزنی $8/89 \pm 95/93$ گرم، سه حوضچه ایمنوستر ۳٪ با میانگین وزنی $10/11 \pm 95/65$ گرم و سه حوضچه ایمنووال ۳٪ با میانگین وزنی $7/66 \pm 94/90$ گرم انجام شد. میانگین وزنی تیمارها فاقد اختلاف معنی دار بود ($P > 0/05$).

۳-۴- نحوه ساخت و آماده سازی جیره های غذایی

جیره های غذایی با استفاده از مواد اولیه داخلی در دسترس تهیه شدند. ترکیبات غذایی هر یک از جیره های آزمایشی بر اساس فرمولاسیون تغذیه بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکنتر دامن در جدول ۳-۱ ارائه شده اند. برای تهیه جیره ها ابتدا مواد اولیه خشک شامل پودر ماهی کیلکا، پودر گوشت، آرد سویا، آرد گندم، آل-متیونین، آل-کارنیتین، نمک، ویتامین C، ویتامین E، سلولز، مخلوط ویتامینی و مخلوط معدنی توسط ترازوی دیجیتالی توزین شده و مخلوط گردیدند.

محرک های ایمنی ایمنوستر ساخت شرکت Awill استرالیا (در سطوح ۱٪ و ۳٪) و ایمنووال ساخت شرکت ICC برزیل (در سطوح ۱٪ و ۳٪) جانشین سلولز موجود در جیره غذایی شده (*Grisdale-Helland et al., 2008; Akrami et al., 2009*) و با یک حامل نظیر آرد گندم به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه هم زن برقی مخلوط شده و در نهایت به صورت همگن به سایر ترکیبات اضافه شده تا با آنها مخلوط شود. آنگاه مواد اولیه مایع نظیر لسیته، روغن آفتابگردان و ملاس به مواد خشک اضافه شده و ترکیب به طور کامل با میکسر همگن گردید. پس از افزودن مقداری آب به خمیر، مخلوط از یک چرخ گوشت بزرگ عبور داده شد تا غذا به پلت های استوانه ای شکل تبدیل گردد. در انتها، پلت ها در خشک کن در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. قطر پلت ها ۴ میلی متر و طول آنها ۸ میلی متر بود. سپس پلت ها را در بسته های مناسب و غیر قابل نفوذ بسته بندی و در دمای ۱۵- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (*Hung et al., 1997*).

یک ساعت قبل از توزیع غذا در حوضچه ها جیره های ساخته شده از فریزر خارج و در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از متعادل شدن درجه حرارت غذای کنسانتره، با استفاده از ترازوی دیجیتالی غذا توزین شده و با توجه به تیمارهای مورد نظر به ماهیان داده شد. لازم به توضیح می باشد که ساخت غذا به صورت هفتگی انجام گرفت و در طول مدت آزمایش جیره ها توسط آزمایشگاه آنالیز مواد غذایی اداره کل دامپزشکی استان گیلان و بر اساس استاندارد (AOAC, 1995) مورد آنالیز قرار گرفتند.

جدول ۳-۱: ترکیبات غذایی جیره های آزمایشی برای تغذیه بچه فیل ماهیان پرورشی در مدت ۸ هفته.
(انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان)

ترکیبات جیره (%)	شاهد (۰%)	IS [*] ۱%	IW ⁺ ۱%	IS ۳%	IW ۳%
پودر ماهی کیلکا	۴۲	۴۲	۴۲	۴۲	۴۲
پودر گوشت	۹	۹	۹	۹	۹
آرد سویا	۱۹/۵	۱۹/۵	۱۹/۵	۱۹/۵	۱۹/۵
آرد گندم	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱
روغن آفتاب گردان	۹	۹	۹	۹	۹
ملاس	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
لسیتین	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
ال- متیونین	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ال- کارنیتین	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
نمک	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ویتامین C	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ویتامین E	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
سلولز	۳	۲	۲	۰	۰
مخلوط ویتامینی ^a	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مخلوط معدنی ^b	۱	۱	۱	۱	۱
ایمنواستر	۰	۱	۰	۳	۰
ایمنووال	۰	۰	۱	۰	۳
IS [*] - ایمنواستر		IW ⁺ - ایمنووال			

مخلوط ویتامینی^a

(g 100 g⁻¹ vitamin premix except A, 160000 IU and D₃, 40000 IU): E, 4; K₃, 0.2; B₁, 0.6; B₂, 0.8; B₃, 1.2; B₅, 4; B₆, 0.4; B₉, 0.2; B₁₂, 0.8; H₂, 0.02; C, 6; Inositol, 2; BHT (butylated hydroxyl toluene), 2.

مخلوط معدنی^b

(g 100 g⁻¹ mineral premix): Fe, 2.6; Zn, 1.25; Se, 0.2; Co, 0.048; Cu, 0.42; Mn, 1.58; I, 0.1; Cholin chloride, 1.2.

آنالیز غذایی هر یک از جیره های غذایی مورد آزمایش در جدول ۳-۲ نشان داده شده است:
جدول ۳-۲: آنالیز غذایی جیره های آزمایشی (بر اساس ماده خشک)

ترکیبات جیره (%)	شاهد (%)	IS [*] ۱%	IW ⁺ ۱%	IS ۳%	IW ۳%
رطوبت	۶/۱	۵/۹	۶/۳	۶/۲	۶/۱
پروتئین	۴۲	۴۱/۳	۴۱/۸	۴۲/۲	۴۱/۴
چربی	۱۵	۱۵/۲	۱۵/۴	۱۴/۸	۱۵/۲
فیبر	۲/۴	۲/۲	۲/۳	۲/۳	۲/۳
خاکستر	۱۰/۱	۱۰/۲	۱۰/۳	۱۰/۱	۱۰/۲
عصاره عاری از ازت ^{**}	۳۰/۵	۳۱/۱	۳۰/۲	۳۰/۶	۳۰/۹
انرژی (kcal/kg)	۳۵۰۰	۳۵۰۹	۳۵۱۱	۳۴۹۴	۳۵۰۷

IS^{*} = ایمنواستر IW⁺ = ایمنووال

^{**} عصاره عاری از ازت = (خاکستر + فیبر + چربی + پروتئین) - ۱۰۰

۳-۵. نحوه غذایی و زیست سنجی

بچه فیل ماهیان به مدت ۸ هفته (Torrecillas *et al.*, 2007 & 2010; Akrami *et al.*, 2009; Andrews *et al.*, 2009) با افزودن ایمنواستر و ایمنووال در سطوح ۱٪ و ۳٪ به جیره غذایی و بر اساس حداکثر ۴٪ وزن توده زنده در ۴ نوبت (۲ بامداد، ۸ صبح، ۱۴ عصر و ۲۰ شب) تغذیه شدند (پورعلی و همکاران، ۱۳۸۲; Mohseni *et al.*, 2006). البته از هفته هفتم به دلیل کاهش دما میزان غذایی به تدریج ابتدا به ۳٪ و سپس به ۲٪ وزن توده زنده و تعداد دفعات غذایی نیز به ۲ وعده در روز کاهش یافت.

جهت تعیین توده زنده هر یک از حوضچه ها، هر دو هفته یکبار ۱۰۰٪ ماهیان هر حوضچه با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم توزین شده و با دقت میلی متر طول کل آنها اندازه گیری و در فرم های مخصوص ثبت شدند. قبل از انجام هر مرحله زیست سنجی، بچه ماهیان به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شدند تا لوله گوارش آنها به طور کامل تخلیه گردد (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۳). زمانی که فیل ماهیان جوان جهت زیست سنجی از حوضچه ها خارج می شدند، حوضچه ها و سنگ های هوا به طور کامل شسته و تمیز شدند. به منظور حفظ کیفیت محیط پرورش، همه روزه سطح داخلی دیواره ها و کف حوضچه ها با دست و به کمک دستکش و اسکاچ تمیز شدند. علاوه بر این، بقایای غذا و مدفوع ماهیان سه تا چهار بار در روز با ایجاد جریان ملایم چرخشی در آب از حوضچه ها خارج گردید.

۳-۶. اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب

اندازه گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما و میزان اکسیژن محلول با استفاده از اکسی متر دیجیتال و pH هم با استفاده از pH متر دیجیتال به طور روزانه انجام و داده ها ثبت شدند. میانگین دما، میانگین اکسیژن و میانگین pH در طول دوره پرورش به ترتیب ۲۰/۵۵ ± ۵/۱۱ درجه سانتی گراد، ۶/۷۳ ± ۰/۳۵ میلی گرم در لیتر و ۷/۹۲ ± ۰/۰۹ بودند.

۷-۳- محاسبه برخی از شاخص های رشد

جهت ارزیابی میزان رشد و تعیین زیتوده هر حوضچه پس از هر مرحله زیست سنجی، شاخص های رشد ذیل مورد محاسبه قرار گرفتند (Hung et al., 1993 & 1997 and Luo et al., 2010).

$$BWI = \left[\frac{W_t - W_i}{W_i} \right] \times 100$$

درصد افزایش وزن بدن

$$SGR = \left[\frac{\ln W_t - \ln W_i}{T} \right] \times 100$$

شاخص رشد ویژه

$$ADG = \left[\frac{W_t - W_i}{W_i \times T} \right] \times 100$$

میانگین رشد روزانه

$$FCR = \frac{Feedfed}{W_t - W_i}$$

ضریب تبدیل غذایی

$$CF = \frac{W}{L^3} \times 100$$

ضریب چاقی

$$PER = \frac{W_t - W_i}{\text{Protein intake}}$$

ضریب کارایی پروتئین

$$HSI = \frac{WL}{WT} \times 100$$

شاخص کبدی

در فرمول های فوق W وزن ماهی، W_i وزن اولیه ماهی، W_t وزن نهایی ماهی، L طول بدن، T طول مدت پرورش، WL وزن کبد و WT وزن بدن است.

۸-۳- آنالیز لاشه

در ابتدا، وسط و پایان دوره آزمایش آنالیز لاشه جهت تعیین سطوح پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت و کربوهیدرات کل به طور تصادفی انجام گرفت. در ابتدای دوره و پس از گذشت یک ماه از دوره سازگاری، تعداد ۱۰ عدد بچه فیل ماهی به صورت کاملاً تصادفی انتخاب و پس از خارج نمودن امعاء و احشاء به کمک چرخ گوشت سه بار چرخ شده و به آزمایشگاه جهت آنالیز منتقل شدند. در وسط و انتهای دوره از هر تکرار تعداد ۲ عدد ماهی (مجموعاً ۶۰ نمونه) به صورت کاملاً تصادفی انتخاب و براساس روش گفته شده به آزمایشگاه ارجاع داده شدند.

جهت تعیین رطوبت از دستگاه آون (Memmert, Germany) با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت استفاده گردید. کوره الکتریکی (Gallenkamp, England) برای تعیین خاکستر با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت به کار برده شد. جهت سنجش میزان پروتئین از سیستم کج‌دال (Bushy, Switzerland) و برای ارزیابی میزان چربی از سیستم سوکسله (Bushy, Switzerland) استفاده شد. برای تعیین مقدار انرژی غذا از دستگاه بمب کالریمتر

(Parr, USA) استفاده گردید. در نهایت کربوهیدرات کل نیز با کسر اعداد حاصل از پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت از عدد ۱۰۰ بدست آمد (AOAC, 1995). کلیه فرایندهای آنالیز لاشه و همچنین آنالیز مواد غذایی در آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی استان گیلان به عنوان آزمایشگاه مرجع استان انجام گردید.

۳-۹- فرایند خونگیری و تهیه سرم

در ابتدا، وسط و پایان دوره آزمایش عمل نمونه برداری از خون ماهیان به طور تصادفی انجام گرفت. در ابتدای دوره و پس از گذشت یک ماه از دوره سازگاری، تعداد ۱۰ عدد بچه فیل ماهی به صورت تصادفی انتخاب شدند. تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از خونگیری قطع شد و سپس با استفاده از سرنگ ۲ میلی لیتر و از طریق ورید ساقه دمی واقع در پشت باله مخرجی از آنها خونگیری به عمل آمد. لازم به توضیح می باشد که در هنگام فرایند خونگیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص های خونی استفاده نگردید (Torrecillas *et al.*, 2007 & 2010). از نمونه های خون جمع آوری شده مقدار ۱/۵ میلی لیتر برای جداسازی سرم در لوله های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین و ۰/۵ میلی لیتر در لوله های اپندورف حاوی ماده ضد انعقاد هپارین تقسیم گردید.

جهت انجام مطالعات سرولوژی خون موجود در لوله های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم جدا و با سمپلر در اپندورف های تازه ریخته و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در وسط و انتهای دوره از هر تکرار تعداد ۳ عدد ماهی (مجموعاً ۹۰ نمونه) به صورت تصادفی انتخاب و براساس مراحل ذکر شده به آزمایشگاه ارجاع داده شدند. اندازه گیری کلیه شاخص های خونی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام گرفت.

۳-۹-۱- شاخص های خونی

۳-۹-۱-۱- شمارش گلبول های قرمز و سفید

برای انجام این امر از یک ملانژور یا پیپت رقیق کننده (دارای سنگ سفید) برای گلبول های سفید و یک ملانژور (دارای سنگ قرمز) برای گلبول های قرمز استفاده گردید. براساس خاصیت لوله های مویینه، پیپت را تا درجه ۰/۵ از خون پر نموده و بقیه محفظه را تا درجه فوقانی (که برای گلبول های سفید ۱۱ و برای گلبول های قرمز ۱۰۱ می باشد) از محلول رقیق کننده Rees پر می کنیم. در مدت زمان ۵ دقیقه ملانژورها را برای مخلوط شدن خون با محلول های رقیق کننده در داخل دستگاه Shaker گذاشته و سپس ۴ قطره اولیه موجود در پیپت را دور ریخته، زیرا این قطرات رقت واقعی خون نمی باشند. جهت پر کردن محل شمارش لام نئوبار پیشرفته، نوک پیپت در محل تماس لام و لامل قرار داده شد تا محفظه های شمارش خود به خود با خاصیت مویینگی در سطح مدرج پر شوند. لام را زیر میکروسکوپ (عدسی ۴۰) گذاشته با تنظیم مربع مرکزی گلبول های قرمز و با تنظیم میکروسکوپ در چهار مربع کناری گلبول های سفید شمارش شدند (عامری، ۱۳۷۸ و مجابی و حیدر نژاد، ۱۳۸۲؛ Klontz, 1994).

$$RBC (N/mm^3) = (R_1 + R_2 + R_3 + R_4 + R_5) \times 5 \times 10 \times 200$$

$$\frac{1}{200} = \text{رقت خون در محلول رقیق کننده} \quad \text{مساحت ۵ مربع (R)} = \frac{1}{5} = \text{میلی متر مربع}$$

فاصله لام و لامل = ارتفاع هر مربع (R) = $\frac{1}{10}$ میلی متر مربع

$$WBC (N/mm^3) = \frac{W_1 + W_2 + W_3 + W_4 \times 20 \times 10}{4}$$

رقت خون در محلول رقیق کننده = $\frac{1}{20}$ مساحت هر مربع (W) = ۱ میلی متر مربع

فاصله لام و لامل = ارتفاع هر مربع (W) = $\frac{1}{10}$ میلی متر مربع

۳-۹-۱-۲- اندازه گیری هماتوکریت

برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. در این روش لوله های میکروهماتوکریت را با خون حاوی هیپارین پر نموده و انتهای لوله ها با استفاده از خمیر هماتوکریت مسدود شد. سپس لوله ها را داخل میکروسانتریفوژ (مدل D-78532 Tuttlingen ساخت شرکت Hettrich آلمان) گذاشته و به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ سانتریفوژ گردید. پس از سانتریفوژ گلبول های سفید و پلاکت ها به علت برخورداری از وزن مخصوص کمتر نسبت به گلبول قرمز به صورت لایه نازکی روی آنها قرار گرفته و با استفاده از خط کش مدرج دستگاه میزان هماتوکریت بر حسب درصد اندازه گرفته شد (Klontz, 1994).

۳-۹-۱-۳- اندازه گیری هموگلوبین

اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین به علت دقت، راحتی انجام کار و سهولت دسترسی به محلول استاندارد پایدار انجام گرفت. برای هر نمونه یک لوله آزمایش انتخاب و در آن دقیقاً ۵ میلی لیتر معرف در ابکین ریخته شد. مقدار ۰/۰۲ میلی لیتر (۲۰ میکرولیتر) خون کاملاً مخلوط شده را در هر لوله به معرف اضافه نموده و پیپت را ۳ تا ۵ دقیقه با معرف شست و شو داده تا همه خون از پیپت وارد آن شود. آنگاه محلول را خوب تکان داده و سپس به مدت ۳ تا ۱۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده تا سیان مت هموگلوبین تشکیل شود. جذب نوری مخلوط را در اسپکتروفتومتر (مدل VIS-2100 ساخت شرکت Unico آمریکا) و در طول موج ۵۴۰ نانومتر در برابر بلانک قرائت کرده و با استفاده از فرمول غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر محاسبه گردید (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994).

۳-۹-۱-۴- محاسبه متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) (Klontz, 1994).

$$MCV = \frac{Hematocrit}{RBC (million / mm^3)} \times 10$$

$$MCH = \frac{Hemoglobin(g / dcl)}{RBC(million / mm^3)} \times 10$$

$$MCHC = \frac{Hemoglobin(g / dcl)}{Hematocrit} \times 100$$

۳-۹-۱-۵- تشخیص افتراقی گلبول های سفید

یک قطره خون را بوسیله لوله میکرو هماتوکریت در یک سانتی متری گوشه سمت راست لام ریخته و سپس با یک لام دیگر با زاویه ۳۰ تا ۴۵ درجه و با حرکت یکنواخت و ملایم قطره خون را به طرف چپ انتشار داده بدین ترتیب گسترش خونی تشکیل گردید. گسترش را به مدت ۵ دقیقه در جریان هوا قرار داده تا خشک شود. مرحله بعد، تثبیت با متانول ۹۶٪ به مدت ۳ تا ۵ دقیقه می باشد. پس از خشک شدن لام ها در جریان هوا، از محلول ۱۰٪ گیمسا جهت رنگ آمیزی استفاده کرده و لامها داخل محلول گیمسا (ساخت شرکت Merck آلمان) به مدت ۳۰ تا ۳۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس لام ها را با آب مقطر شسته و در برابر جریان هوا قرار داده تا خشک شوند. در نهایت لام ها را جهت شناسایی گلبول ها زیر میکروسکوپ (عدسی ۴۰) گذاشته و به شمارش انواع گلبول های سفید نظیر لنفوسیت ها، ائوزینوفیل ها، نوتروفیل ها و مونوسیت ها به روش زیگزاگ با استفاده از دستگاه شمارنده دستی پرداخته شد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994).

۳-۹-۲- شاخص های بیوشیمیایی

۳-۹-۲-۱- اندازه گیری آلبومین

از روش بروموکرزول گرین استفاده گردید. در این روش نمونه های سرم با بروموکرزول گرین تشکیل یک کمپلکس سبز مایل به آبی داده که شدت جذب آن با غلظت آلبومین موجود در نمونه متناسب است. مقدار آن با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل Technicon RA-1000 ساخت آمریکا) سنجیده شد (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲؛ Soltani et al., 2010).

۳-۹-۲-۲- اندازه گیری پروتئین کل

روش بیوره جهت اندازه گیری پروتئین کل استفاده گردید. اساس این روش به این ترتیب است که در شرایط قلیایی یون های کوپریک با اتم های کربونیل اکسیژن و آمید نیتروژن یک کمپلکس آبی مایل به بنفش را ایجاد کرده و شدت رنگ حاصل متناسب با مقدار پروتئین در نمونه است که در طول موج ۵۶۰-۵۲۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل Technicon RA-1000 ساخت آمریکا) اندازه گیری شد (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲؛ Soltani et al., 2010).

۳-۹-۲-۳- اندازه گیری اسمولاریته

بدین منظور از دستگاه اسمومتر (مدل Roebing آلمان) استفاده گردید. پس از کالیبره نمودن دستگاه در دو مرتبه (ابتدا با آب مقطر روی عدد صفر و سپس با محلول نمکی مخصوص روی عدد ۳۰۰) اپندورف حاوی سرم را در دستگاه گذاشته و دستگاه پس از چند لحظه به صورت خودکار فشار اسمزی را بر حسب میلی اسمول بر لیتر اندازه گیری نمود. لازم به ذکر است که این دستگاه براساس خاصیت انجماد عمل می کند (Kazemi et al., 2006).

۳-۹-۲-۴- اندازه گیری یون های سدیم و پتاسیم

برای اندازه گیری یون های سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر Flamephotometer (مدل Jenway ساخت انگلیس) استفاده شد. در این دستگاه از یک محلول نمک آبی که در هوا پخش و منتشر می شود، استفاده به عمل آمد. نمک در این قطرات منتشر شده و بواسطه گرم کردن با شعله به حالت گازی شکل تبدیل و سپس سریعاً به اتم های گازی تجزیه گردید. فراتر از یک درجه حرارت حساس، این اتم ها به جذب انرژی مبادرت نموده که این کار باعث تحریک الکترون ها در جهت وضعیت های

بالا تری از انرژی می گردد. هنگامی که این الکترون های تحریک شده به وضعیت اولیه و اصلی خود بر می گردند، انرژی ذخیره شده را به صورت نور و روشنایی آزاد می کنند. طول موج نور ساطع و آزاد شده بواسطه هر فلز، مشخصه ای برای آن عنصر است (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲؛ Kazemi et al., 2006).

۳-۹-۲-۵- اندازه گیری یون های کلسیم و منیزیم

برای اندازه گیری یون کلسیم از روش کلریمتری (رنگ سنجی) استفاده گردید. کلسیم در مجاورت متیل تیمول بلو ایجاد رنگ نموده که غلظت آن متناسب با مقدار یون کلسیم در محیط می باشد و میزان آن با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل Technicon RA-1000 آمریکا) اندازه گیری شد. برای اندازه گیری یون منیزیم از ماده رنگی Calmagite استفاده شد که روش سریع و راحتی جهت سنجش این کاتیون است (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲؛ Candill and Boone, 1986؛ Kazemi et al., 2006).

۳-۹-۲-۶- اندازه گیری ایمونوگلوبولین M (IgM)

روش مورد استفاده برای اندازه گیری ایمونوگلوبولین M روش ایمونوتوربیدی متری Immunoturbidimetric است. در این روش IgM با آنتی بادی های پلی کلونال موجود در محلول های تامپون تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می شوند. شدت کدورت ایجاد شده با مقدار IgM رابطه مستقیم داشته و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) در طول موج ۳۴۰ نانومتر با بلانک (آب مقطر) خوانده شد (سقا و سروش نیا، ۱۳۸۲؛ Khoshbavar-Rostami et al., 2006b).

۳-۹-۲-۷- اندازه گیری لیزوزیم

برای اندازه گیری سطوح لیزوزیم در سرم خون، ۱/۷۵ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) (معادل مقدار ۰/۳۷۵ میلی گرم در میلی لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH برابر ۶/۲) با ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه های سرم مخلوط و جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه به روش طیف سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر قرائت شد. بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک استفاده شد (Ellis, 1990).

۳-۱۰- روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا آزمون همگنی گروه ها با آزمون Levene انجام پذیرفت. در صورت همگن بودن داده ها، برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه ای از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و برای جداسازی گروه های همگن از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. برای داده های غیر همگن از آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس (Kruskal-Wallis Nonparametric Test) استفاده گردید که معنی دار بودن گروه های مورد بررسی با استفاده از Chi-square در سطح احتمال ۵٪ مشخص گردید. نرم افزار آماری SPSS Version 15 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) برای تجزیه و تحلیل داده ها و نرم افزار Excel 2003 برای رسم نمودارها به کار برده شدند.

فصل چہارم:

نتائج

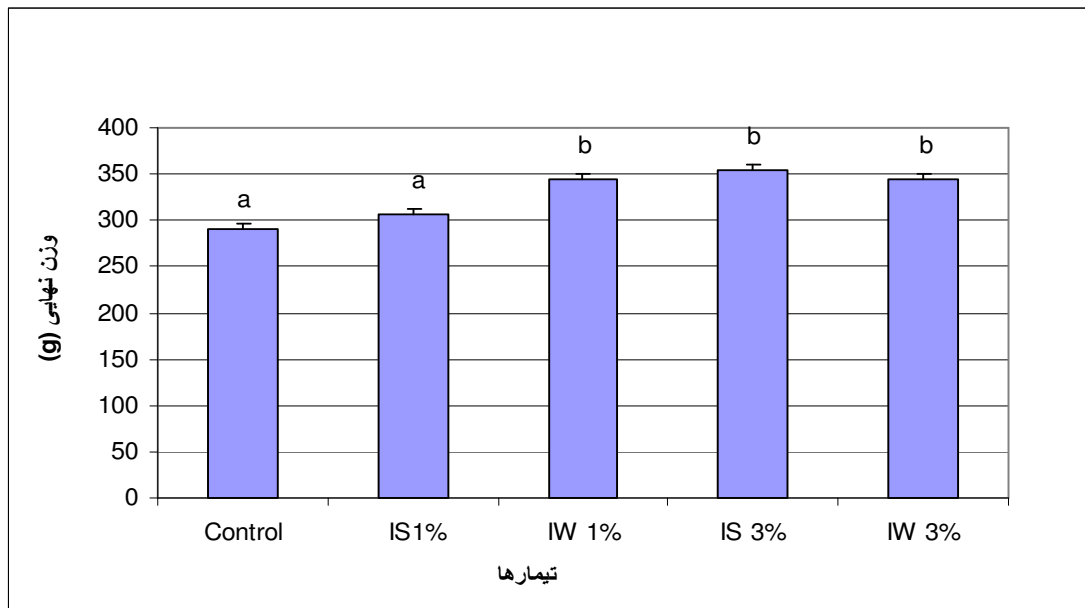
۴-۱- نتایج پارامترهای رشد بچه فیل ماهیان پرورشی

جدول ۴-۱ نتایج شاخص های رشد را در بچه فیل ماهیان پرورشی در پایان هفته هشتم نشان می دهد. ماهیان تغذیه کرده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنوال در سطوح ۱٪ و ۳٪ رشد بهتری را نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته نشان دادند. بطوریکه فاکتورهای نظیر وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، شاخص رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، میانگین رشد روزانه (ADG)، ضریب کارایی پروتئین (PER) و ضریب چاقی (CF) به طور معنی داری توسط ایمنواستر ۳٪ و ایمنوال ۱٪ و ۳٪ در مقایسه با گروه شاهد در وضعیت بسیار خوبی قرار گرفتند ($P < 0/05$). اگرچه میزان شاخص کبدی (HSI) در گروه ایمنواستر و ایمنوال ۳٪ بالاتر بود ولی این اختلاف معنی دار نبود ($P > 0/05$). نرخ بقا طی دوره پرورش در تیمارهای آزمایشی ۱۰۰٪ بود (نمودارهای ۴-۱ تا ۴-۱۸).

جدول ۴-۱: مقایسه پارامترهای رشد بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم.

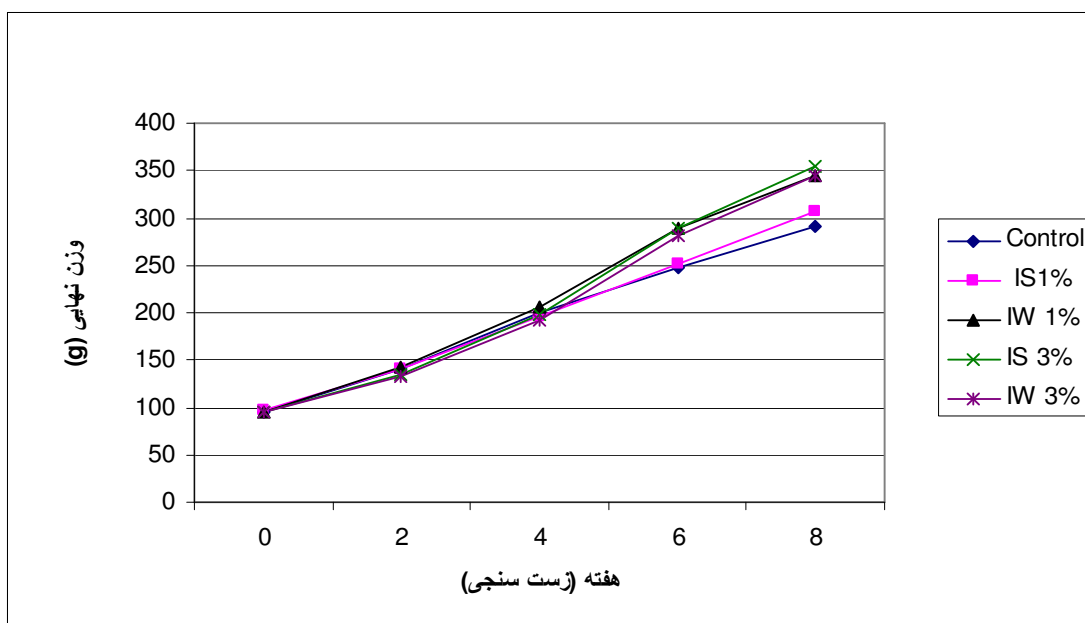
شاخص های رشد	شاهد (%)	IS [*]	IW ⁺	IS ^۳ %	IW ^۳ %
وزن اولیه (گرم)	۹۵/۰۸ ± ۱۰/۳۰ ^a	۹۶/۳۲ ± ۹/۸۲ ^a	۹۵/۹۳ ± ۸/۸۹ ^a	۹۵/۶۵ ± ۱۰/۱۱ ^a	۹۴/۹۰ ± ۷/۶۶ ^a
وزن نهایی (گرم)	۲۹۰/۲۸ ± ۵۸/۲۳ ^a	۳۰۶/۵۱ ± ۵۸/۱۸ ^a	۳۴۴/۶۴ ± ۵۰/۹۱ ^b	۳۵۴/۱۷ ± ۵۷/۲۸ ^b	۳۴۳/۷۳ ± ۶۱/۸۴ ^b
طول اولیه (سانتی متر)	۳۰/۸۴ ± ۱/۰۹ ^a	۳۰/۹۶ ± ۰/۸۹ ^a	۳۰/۸۰ ± ۰/۹۶ ^a	۳۰/۸۴ ± ۱/۱۱ ^a	۳۰/۷۶ ± ۱/۳۴ ^a
طول نهایی (سانتی متر)	۴۲/۲۶ ± ۲/۵۷ ^a	۴۲/۶۷ ± ۲/۲۰ ^a	۴۳/۷۰ ± ۱/۹۰ ^b	۴۴/۵۲ ± ۲/۳۴ ^b	۴۴/۰۱ ± ۲/۴۹ ^b
درصد افزایش وزن بدن	۲۰۷/۱۵ ± ۱۳/۸۵ ^a	۲۱۹/۵۲ ± ۱۹/۷۸ ^{ab}	۲۶۱/۲۸ ± ۱۴/۵۷ ^{bc}	۲۷۱/۰۸ ± ۱۰/۶۸ ^c	۲۶۵/۱۳ ± ۲۰/۱۴ ^c
شاخص رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۹۹ ± ۰/۰۸ ^a	۲/۰۶ ± ۰/۱۱ ^{ab}	۲/۲۸ ± ۰/۷۰ ^{bc}	۲/۳۴ ± ۰/۰۵ ^c	۲/۳۰ ± ۰/۱۰ ^c
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۰ ± ۰/۱۰ ^c	۱/۵۸ ± ۰/۱۱ ^{bc}	۱/۳۹ ± ۰/۰۸ ^{ab}	۱/۳۰ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۳۲ ± ۰/۰۸ ^a
میانگین رشد روزانه (گرم در روز)	۳/۶۹ ± ۰/۲۴ ^a	۳/۹۱ ± ۰/۳۵ ^{ab}	۴/۶۶ ± ۰/۲۵ ^{bc}	۴/۸۳ ± ۰/۱۸ ^c	۴/۷۳ ± ۰/۳۶ ^c
ضریب کارایی پروتئین	۱/۳۹ ± ۰/۰۸ ^a	۱/۵۲ ± ۰/۱۰ ^{ab}	۱/۷۰ ± ۰/۱۰ ^{bc}	۱/۸۴ ± ۰/۰۶ ^c	۱/۸۱ ± ۰/۱۰ ^c
ضریب چاقی	۰/۳۸ ± ۰/۰۰۵ ^a	۰/۳۹ ± ۰/۰۰۵ ^{ab}	۰/۴۳ ± ۰/۰۱ ^c	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ ^{bc}	۰/۴۰ ± ۰/۰۰۵ ^{ab}
شاخص کبدی (%)	۳/۵۹ ± ۰/۳۷ ^a	۳/۳۸ ± ۰/۳۵ ^a	۳/۴۹ ± ۰/۴۰ ^a	۳/۶۶ ± ۰/۳۸ ^a	۳/۶۸ ± ۰/۳۸ ^a

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).
 IS^{*} - ایمنواستر IW⁺ - ایمنووال



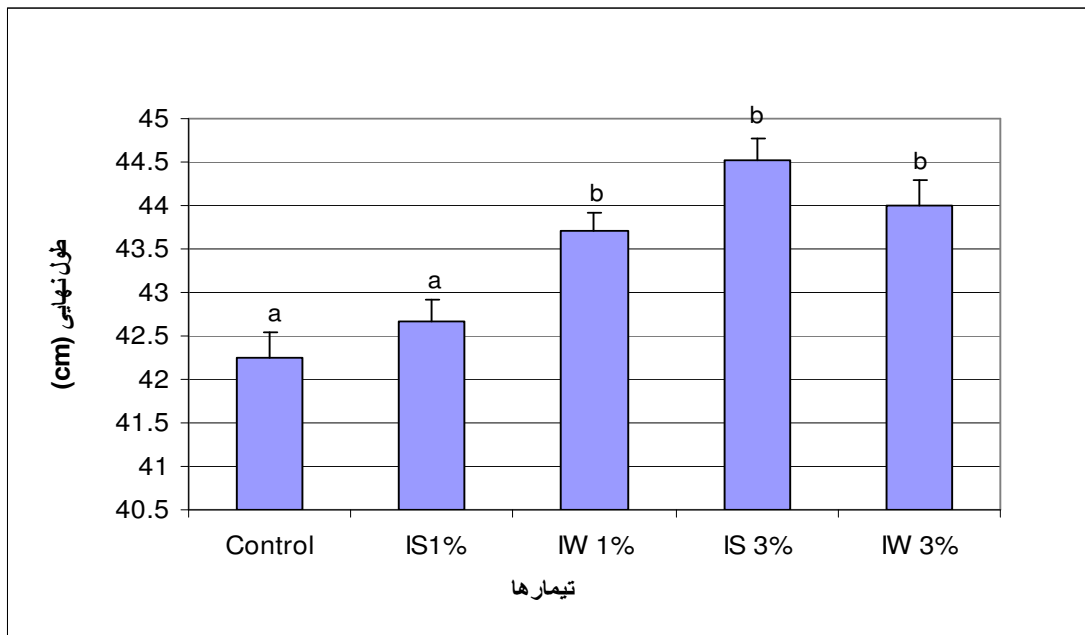
نمودار (۴-۱): مقایسه وزن نهایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۱) افزایش وزن معنی داری در گروه های ایمنوستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ مشاهده شد ($P < 0/05$). تیمار ایمنوستر ۳٪ دارای بیشترین وزن نهایی بود.



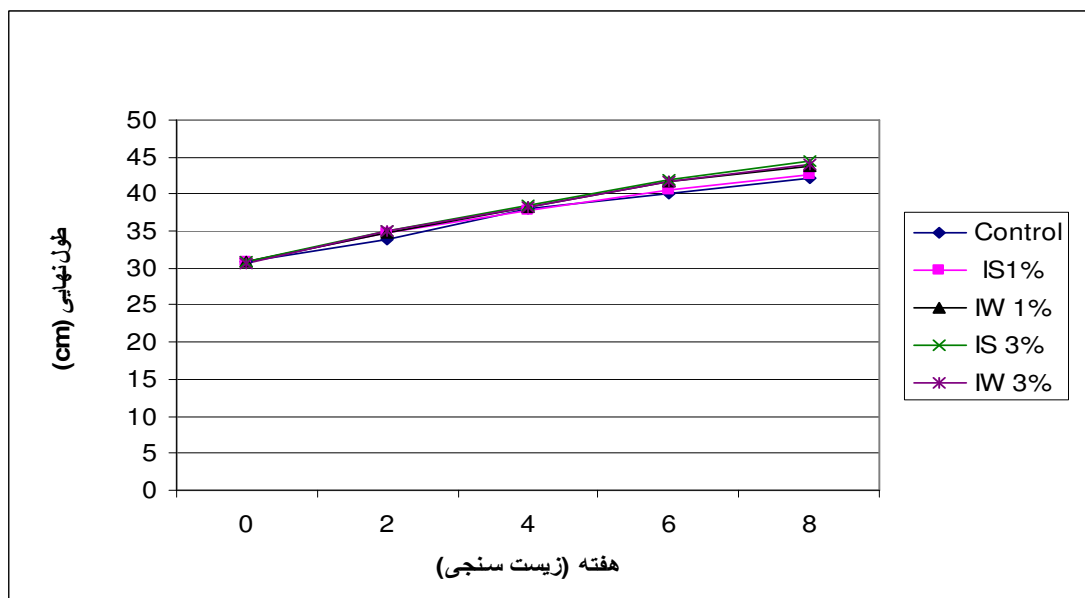
نمودار (۴-۲): مقایسه روند وزن بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

طبق نمودار (۴-۲) بیشترین میزان وزن نهایی طی هفته های مختلف زیست سنجی در تیمار ایمنوستر ۳٪ بدست آمد.



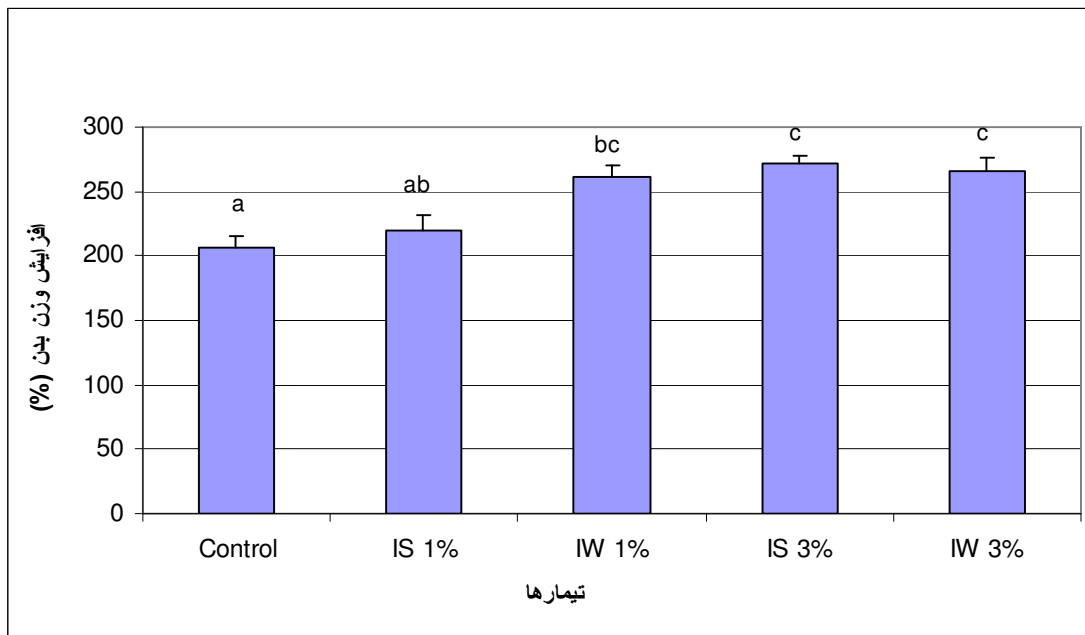
نمودار (۳-۴): مقایسه طول نهایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۳-۴) افزایش طول معنی داری در گروه های ایمنوآستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ مشاهده شد ($P < 0.05$). تیمار ایمنوآستر ۳٪ دارای بیشترین طول نهایی بود.



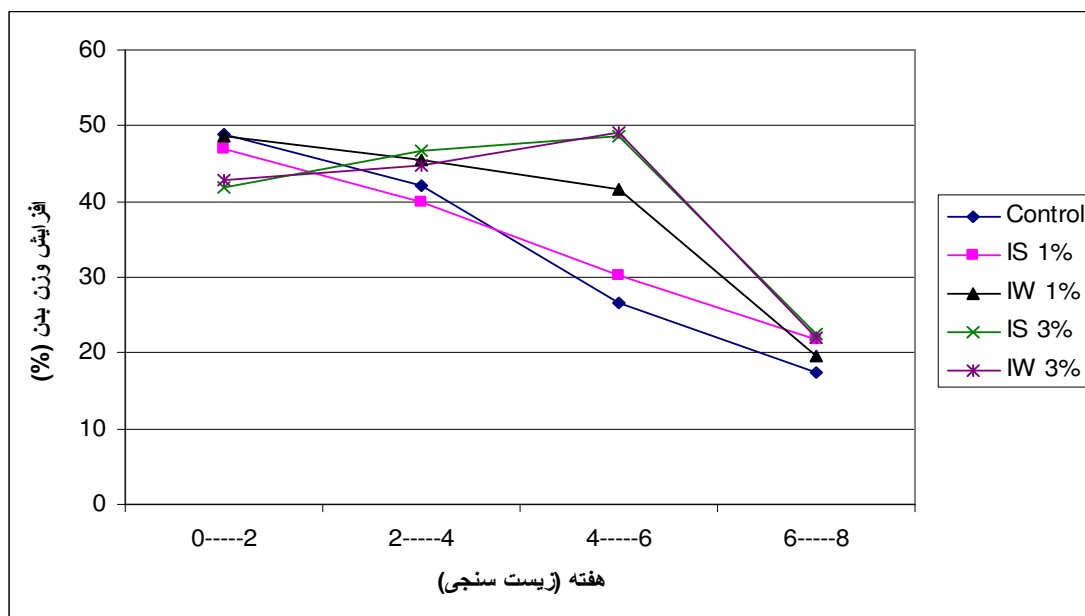
نمودار (۴-۴): مقایسه روند طول بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

طبق نمودار (۴-۴) بیشترین میزان طول نهایی طی هفته های مختلف زیست سنجی در تیمار ایمنوآستر ۳٪ بدست آمد.

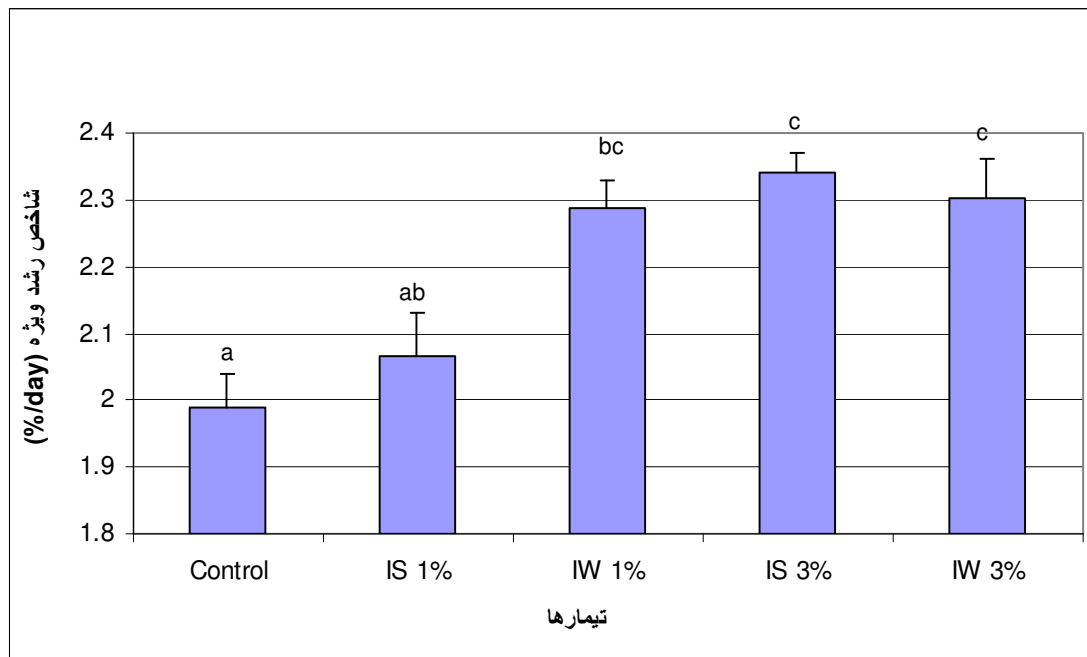


نمودار (۴-۵): مقایسه درصد افزایش وزن بدن بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۵) میزان درصد افزایش وزن بدن در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمارهای ایمنواستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند ($P < 0/05$). تیمار ایمنواستر ۳٪ دارای بیشترین درصد افزایش وزن بدن بود.

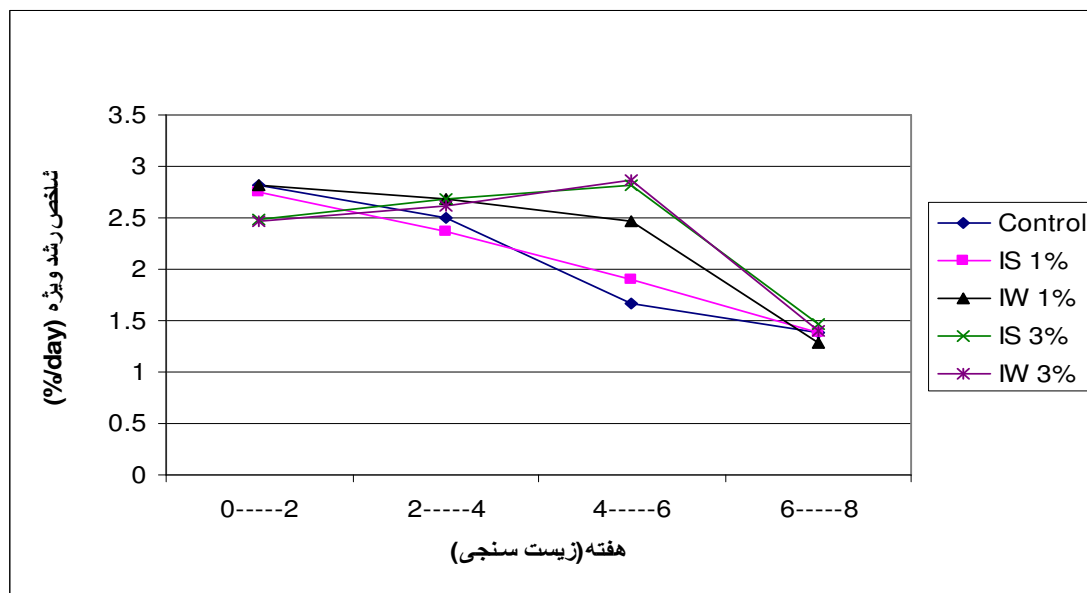


نمودار (۴-۶): مقایسه روند درصد افزایش وزن بدن بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

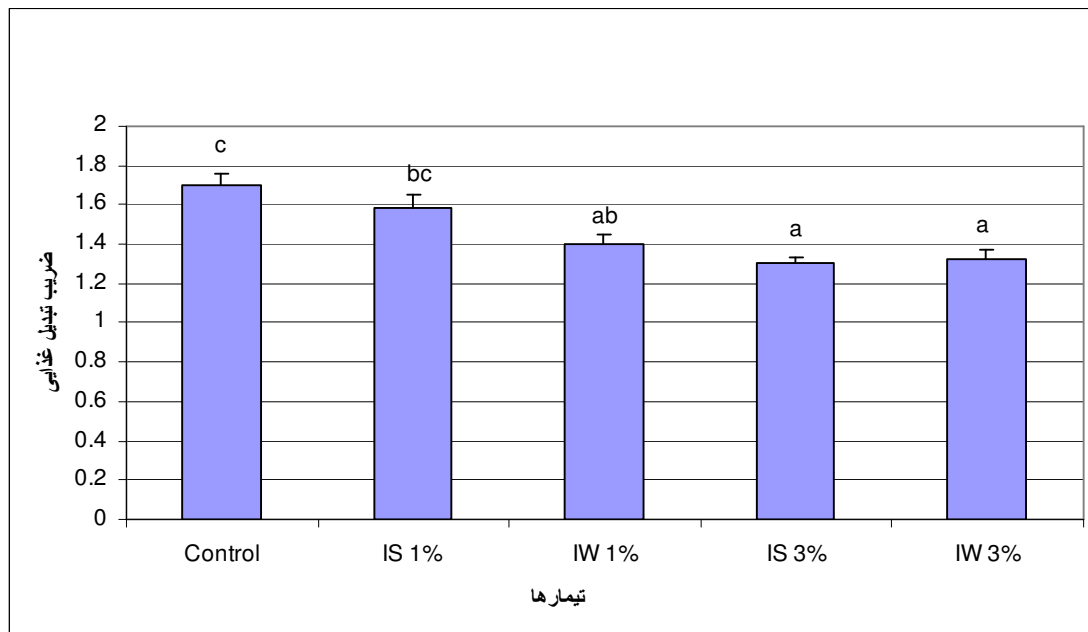


نمودار (۷-۴): مقایسه شاخص رشد ویژه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۷-۴) میزان شاخص رشد ویژه در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمارهای ایمنواستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). تیمار ایمنواستر ۳٪ دارای بیشترین میزان شاخص رشد ویژه بود.

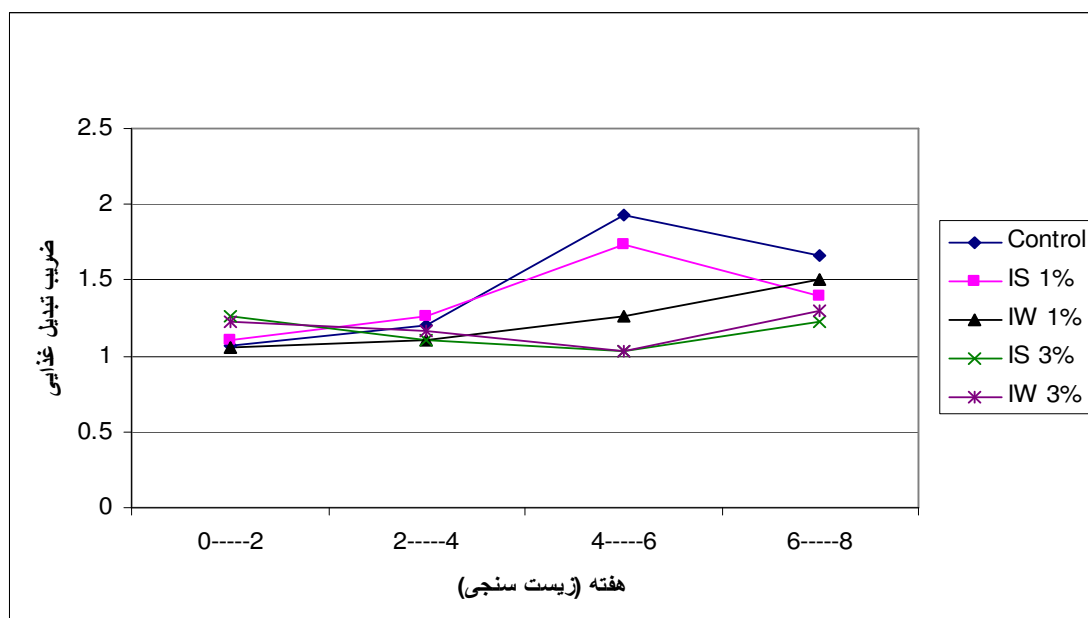


نمودار (۸-۴): مقایسه روند شاخص رشد ویژه بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

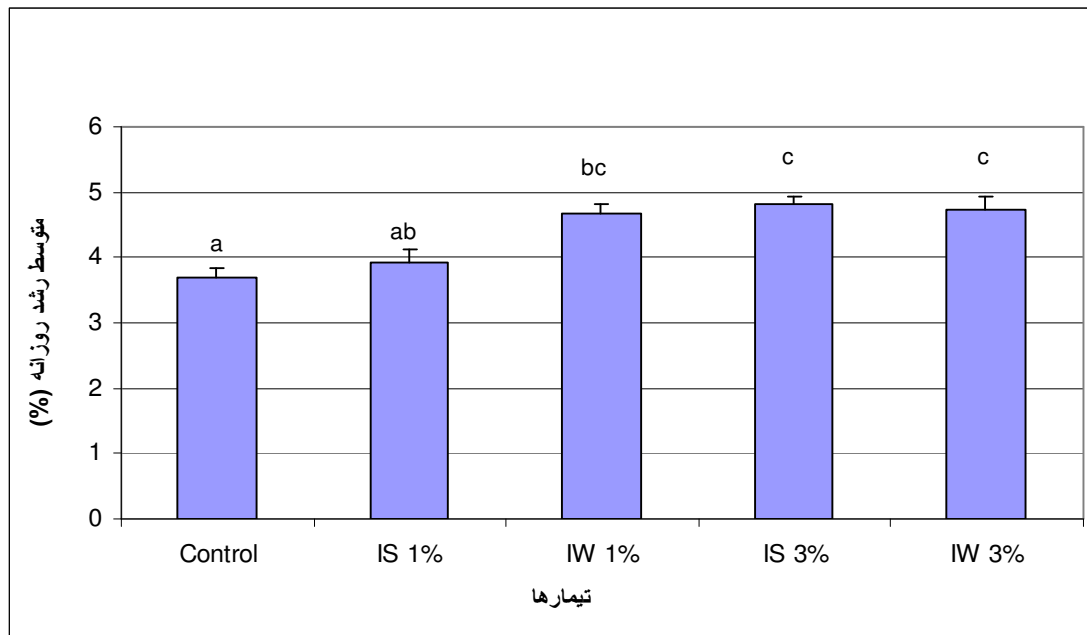


نمودار (۹-۴): مقایسه ضریب تبدیل غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۹-۴) میزان ضریب تبدیل غذایی در تمامی تیمارهای آزمایشی کاهش را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمارهای ایمنوستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). تیمار ایمنوستر ۳٪ دارای کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی بود.

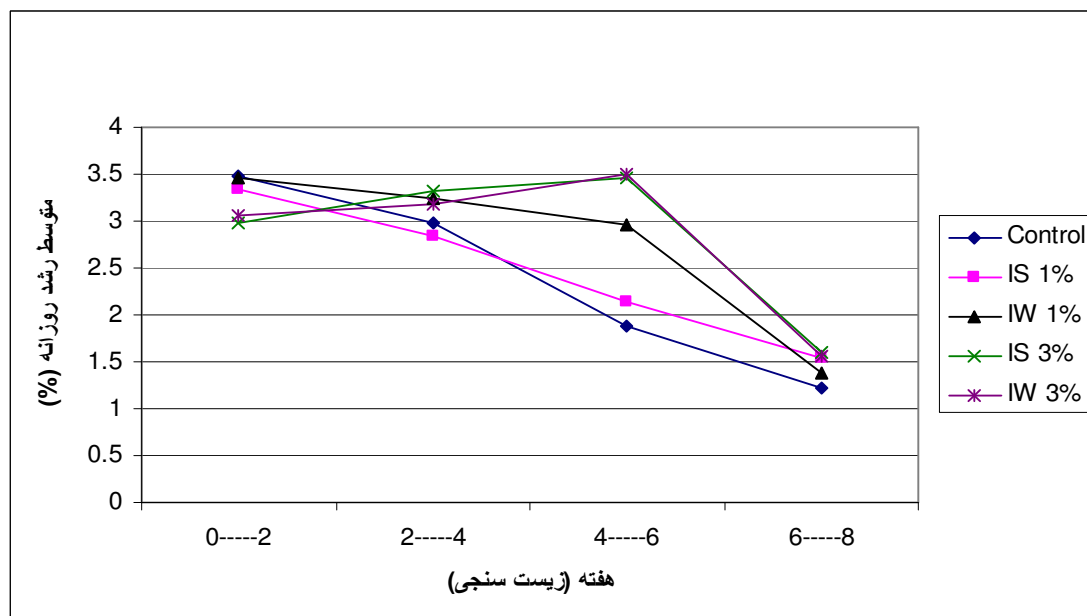


نمودار (۱۰-۴): مقایسه روند ضریب تبدیل غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

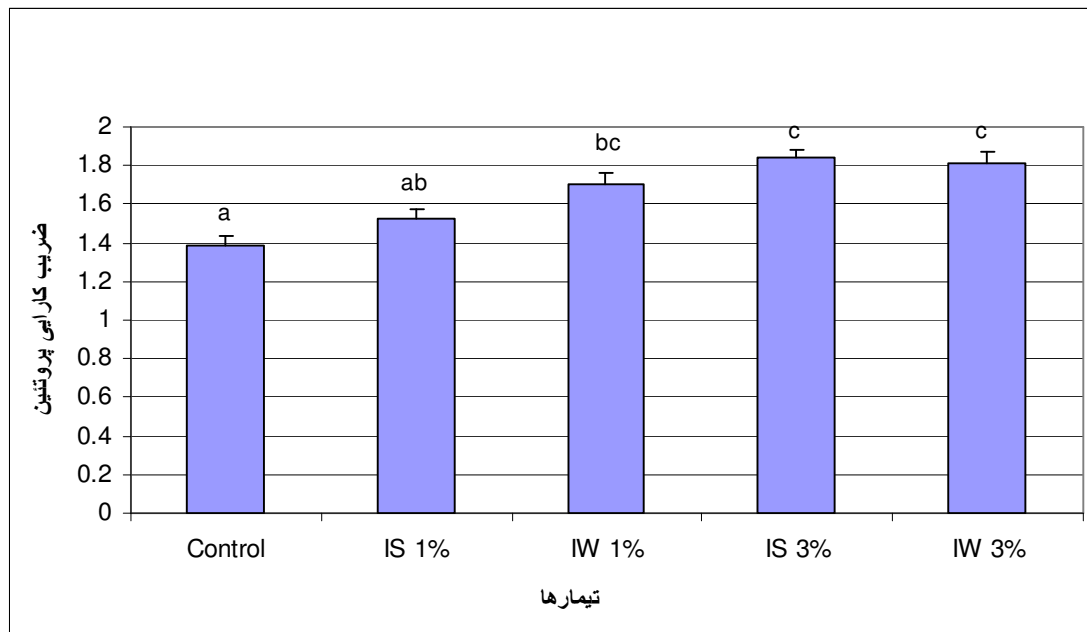


نمودار (۴-۱۱): مقایسه میانگین رشد روزانه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۱۱) میزان متوسط رشد روزانه در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمارهای ایمنوستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). تیمار ایمنوستر ۳٪ دارای بیشترین میزان متوسط رشد روزانه بود.

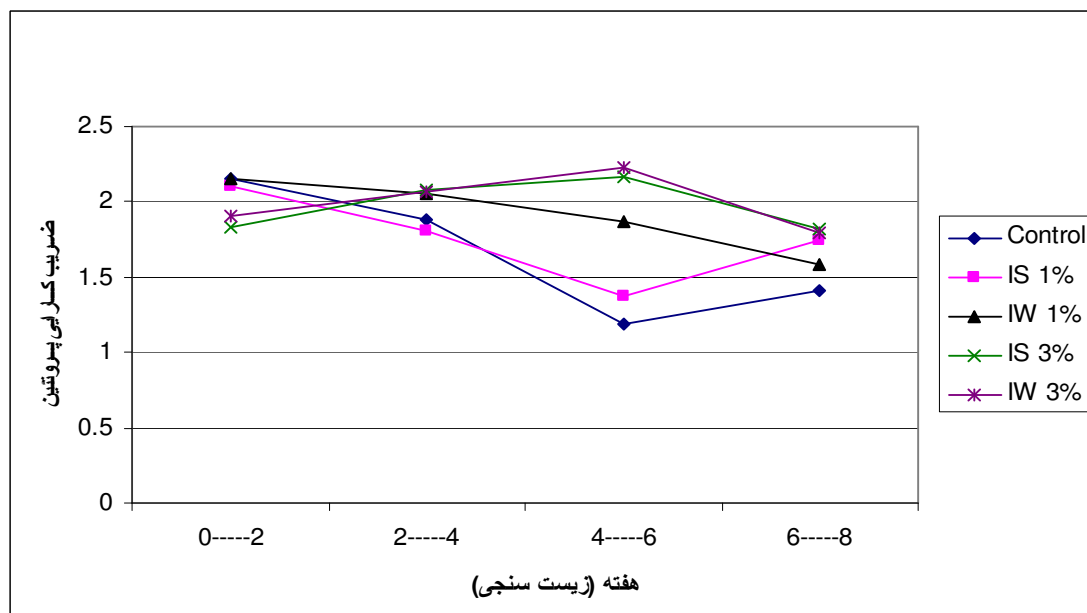


نمودار (۴-۱۲): مقایسه روند میانگین رشد روزانه بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

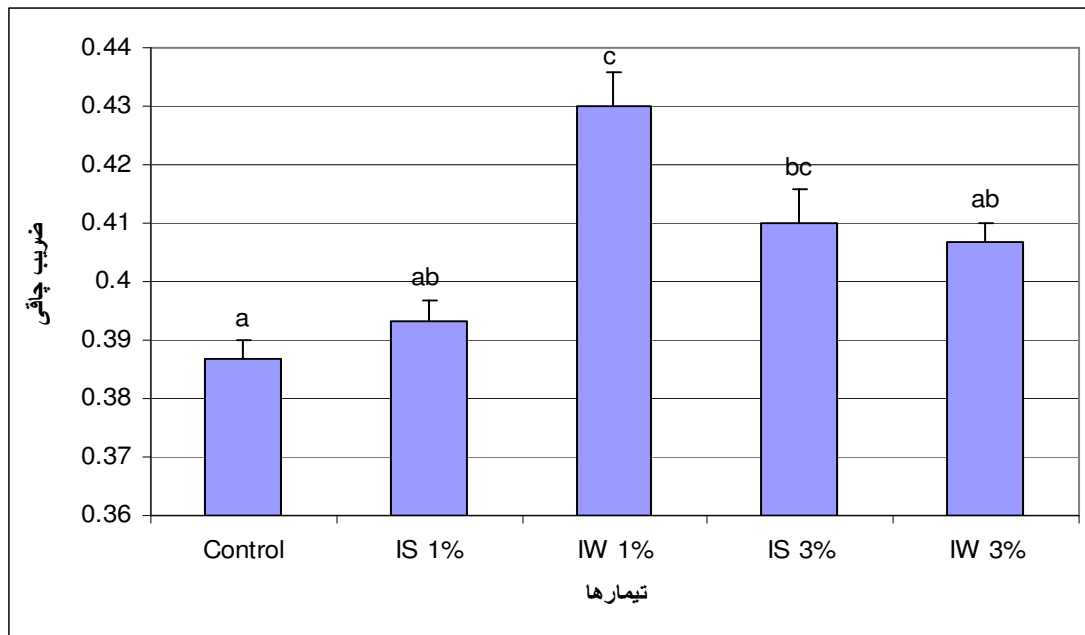


نمودار (۴-۱۳): مقایسه ضریب کارایی پروتئین بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۱۳) میزان ضریب کارایی پروتئین در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمارهای ایمنوستر ۳٪ و ایمنووال ۱٪ و ۳٪ اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). تیمار ایمنوستر ۳٪ دارای بیشترین میزان ضریب کارایی پروتئین بود.

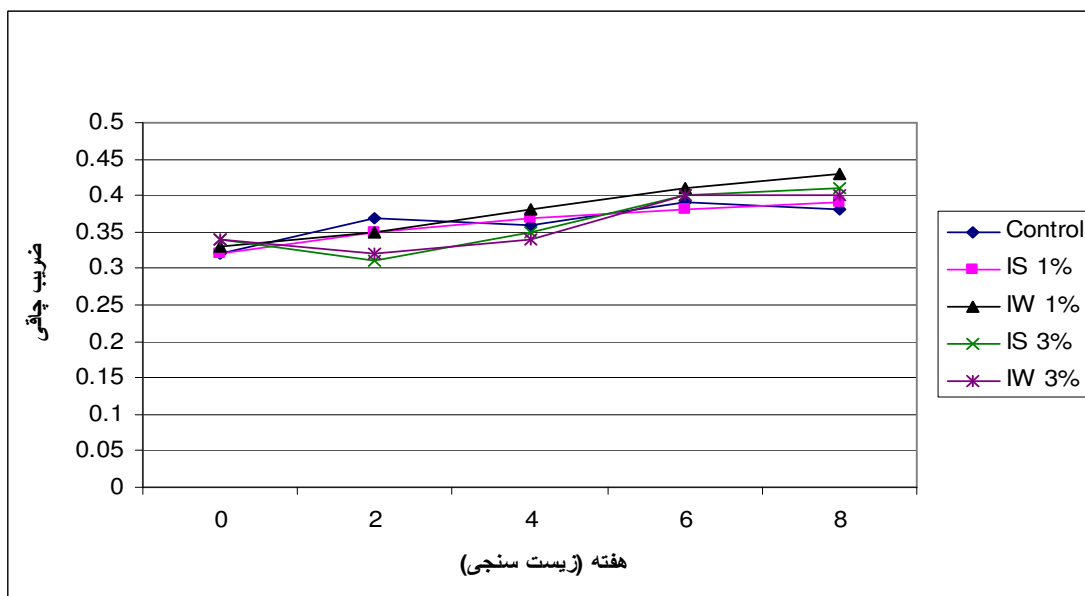


نمودار (۴-۱۴): مقایسه روند ضریب کارایی پروتئین بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

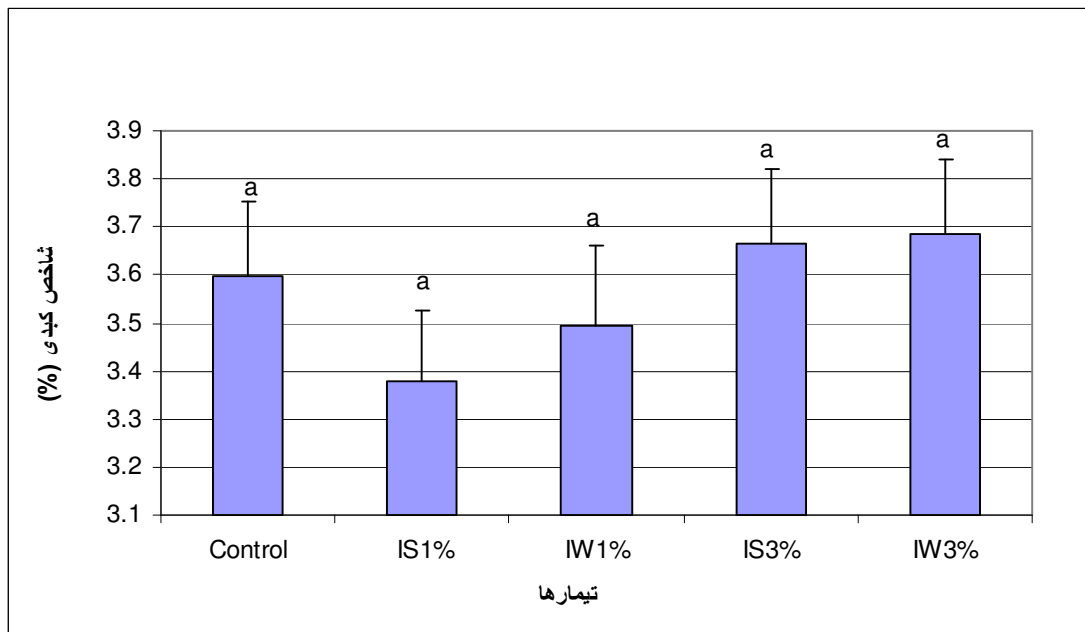


نمودار (۴-۱۵): مقایسه ضریب چاقی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۱۵) میزان ضریب چاقی در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. تیمارهای ایمنووال ۱٪ و ایمنوستر ۳٪ اختلاف معنی داری را با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). تیمار ایمنووال ۱٪ دارای بیشترین میزان ضریب چاقی بود.

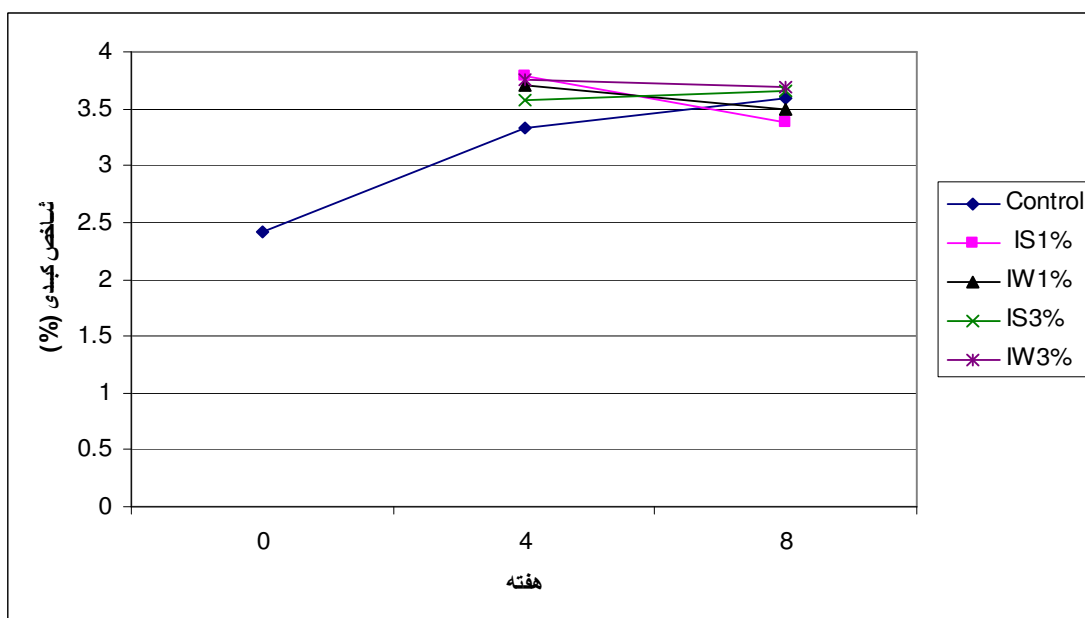


نمودار (۴-۱۶): مقایسه روند ضریب چاقی بچه فیل ماهیان پرورشی طی هفته های مختلف زیست سنجی. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)



نمودار (۴-۱۷): مقایسه شاخص کبدی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۱۷) اختلاف معنی داری از نظر شاخص کبدی بین تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد وجود نداشت ($P > 0.05$). تیمارهای ایمنوستر ۳٪ و ایمنووال ۳٪ دارای بیشترین میزان شاخص کبدی بودند.



نمودار (۴-۱۸): مقایسه روند شاخص کبدی بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

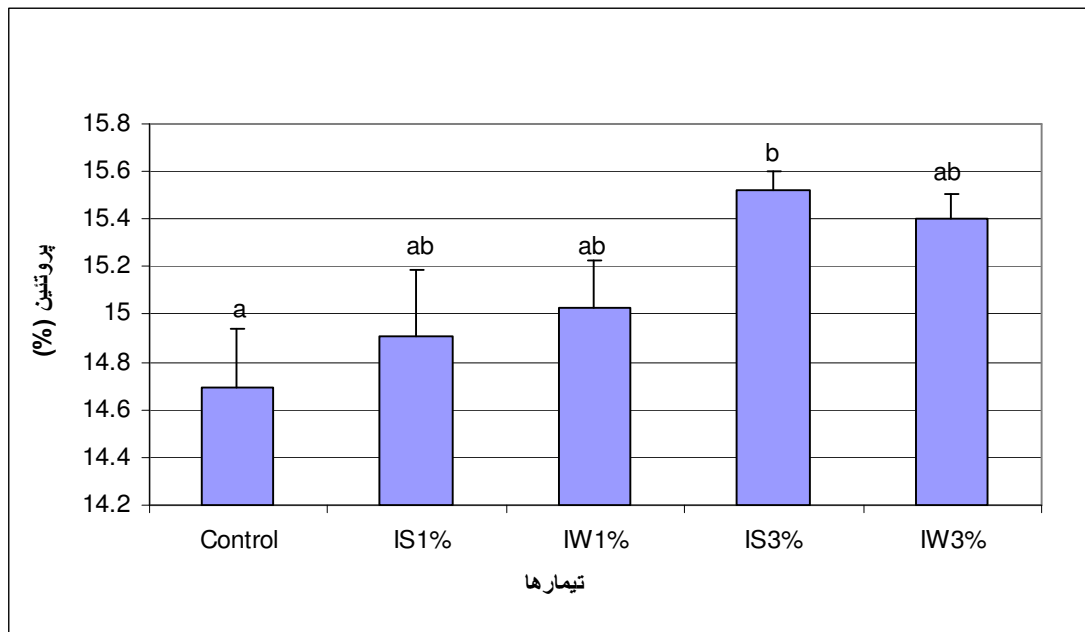
۴-۲- نتایج پارامترهای آنالیز لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی

جدول ۴-۲ نتایج پارامترهای آنالیز لاشه را در بچه فیل ماهیان پرورشی در پایان هفته هشتم نشان می دهد. ماهیان تغذیه کرده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال در سطوح ۱٪ و ۳٪ دارای میزان پروتئین بیشتری نسبت به گروه شاهد در لاشه خود بودند. تیمار ایمنواستر ۳٪ ($\pm 0/20$) (۱۵/۵۲) دارای اختلاف معنی داری با گروه شاهد ($\pm 0/61$ / ۱۴/۶۹) در میزان پروتئین لاشه بود ($P < 0/05$). همچنین تفاوت معنی داری در میزان رطوبت لاشه بین تیمار ایمنووال ۱٪ با گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0/05$). اختلاف معنی داری در سطوح چربی، خاکستر و کربوهیدرات بین گروه های مختلف آزمایشی وجود نداشت ($P > 0/05$) (نمودارهای ۴-۱۹ تا ۴-۲۸).

جدول ۲-۴: مقایسه پارامترهای آنالیز لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم. (تعداد نمونه: ۶ عدد ماهی به ازای هر تیمار)

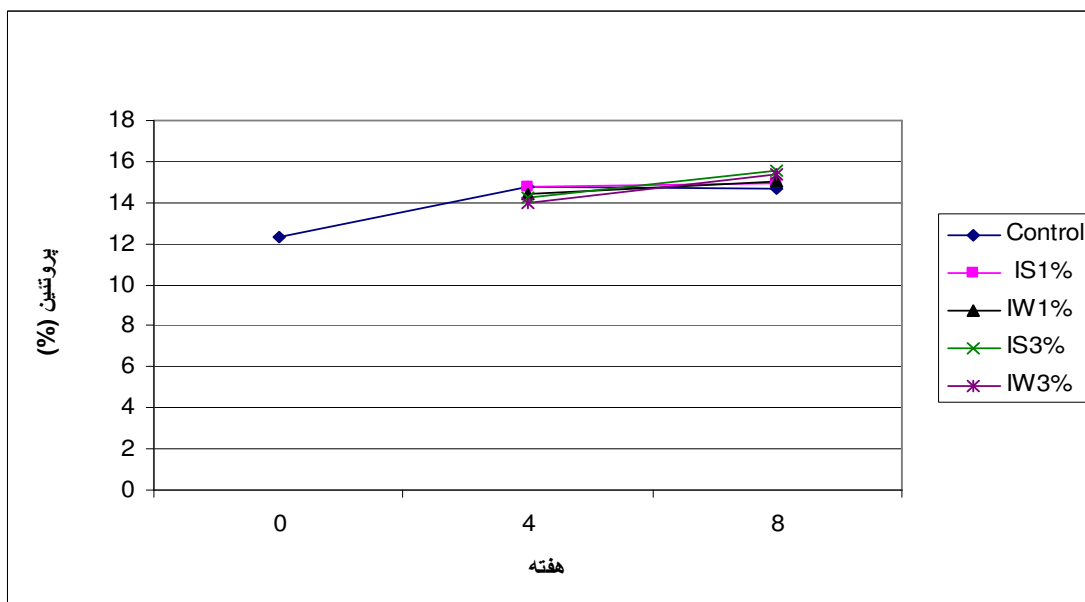
ترکیبات (%)	شاهد (%۰)	IS* %۱	IW ⁺ %۱	IS %۳	IW %۳
پروتئین	۱۴/۶۹ ± ۰/۶۱ ^a	۱۴/۹۱ ± ۰/۶۸ ^{ab}	۱۵/۰۳ ± ۰/۴۸ ^{ab}	۱۵/۵۲ ± ۰/۲۰ ^b	۱۵/۴۰ ± ۰/۲۵ ^{ab}
چربی	۹/۲۰ ± ۱/۰۴ ^a	۹/۷۴ ± ۱/۹۶ ^a	۱۱/۲۵ ± ۰/۸۰ ^a	۹/۴۴ ± ۱/۳۵ ^a	۹/۶۲ ± ۰/۴۹ ^a
خاکستر	۱/۰۶ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۰۱ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۰۱ ± ۰/۰۶ ^a	۱/۰۰ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۰۶ ± ۰/۰۷ ^a
کربوهیدرات	۱/۱۹ ± ۰/۶۰ ^a	۰/۸۵ ± ۰/۶۲ ^a	۱/۲۷ ± ۰/۳۶ ^a	۰/۹۸ ± ۰/۳۸ ^a	۰/۸۳ ± ۰/۳۷ ^a
رطوبت	۷۳/۸۴ ± ۱/۴۶ ^b	۷۳/۴۸ ± ۱/۸۰ ^{ab}	۷۱/۴۱ ± ۰/۸۴ ^a	۷۳/۰۶ ± ۱/۲۸ ^{ab}	۷۳/۰۶ ± ۰/۸۱ ^{ab}

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).
 IS* - ایمنواستر IW⁺ - ایمنووال

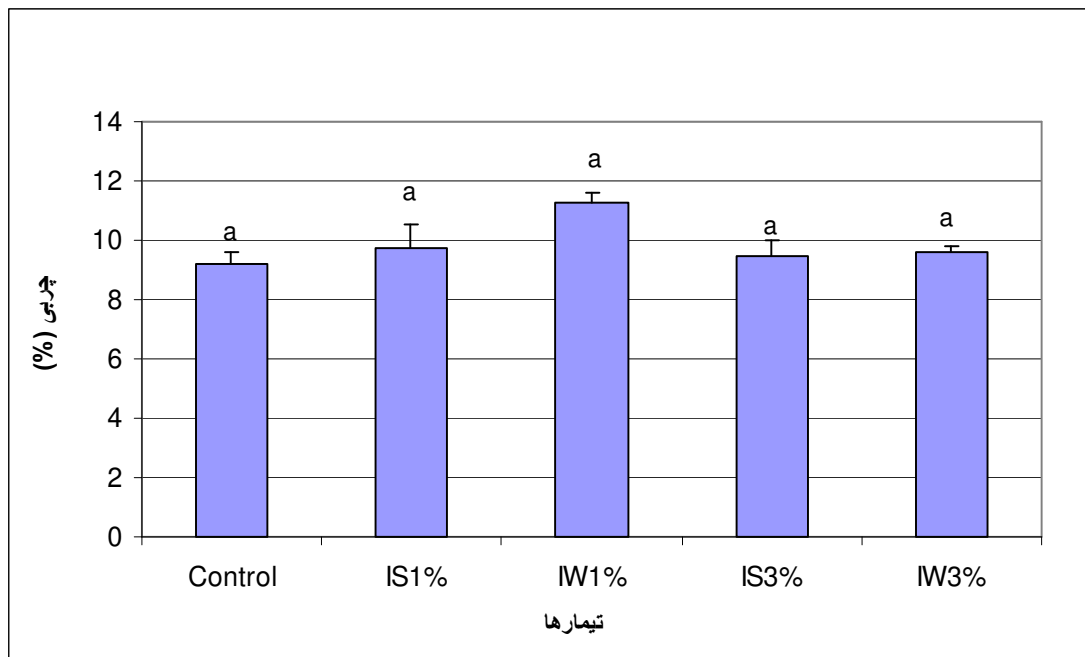


نمودار (۴-۱۹): مقایسه میزان پروتئین لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۱۹) میزان پروتئین لاشه در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. اختلاف معنی داری بین تیمار ایمنوستر ۳٪ با گروه شاهد وجود داشت ($P < 0.05$). تیمار ایمنوستر ۳٪ دارای بیشترین میزان پروتئین بود.

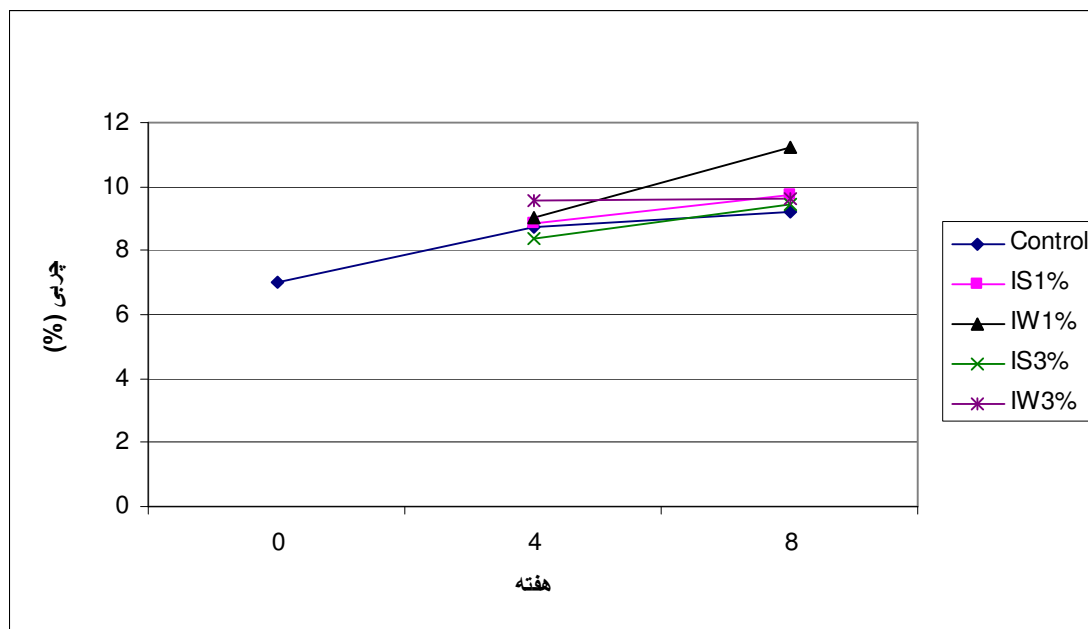


نمودار (۴-۲۰): مقایسه روند میزان پروتئین لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

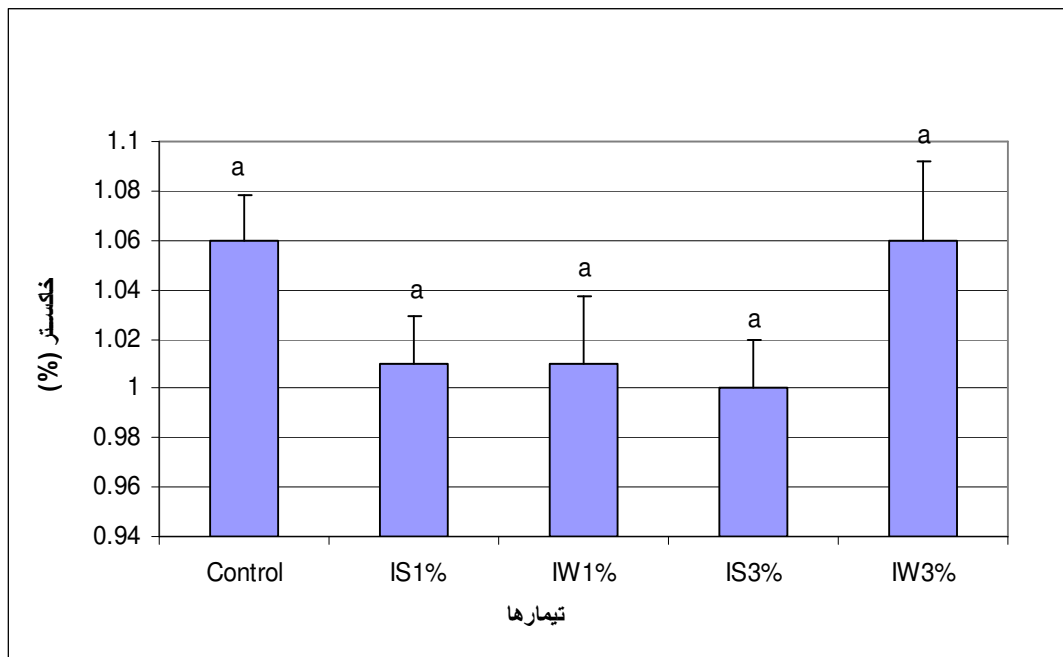


نمودار (۴-۲۱): مقایسه میزان چربی لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۲۱) اختلاف معنی داری از نظر میزان چربی لاشه بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت ($P > 0.05$).

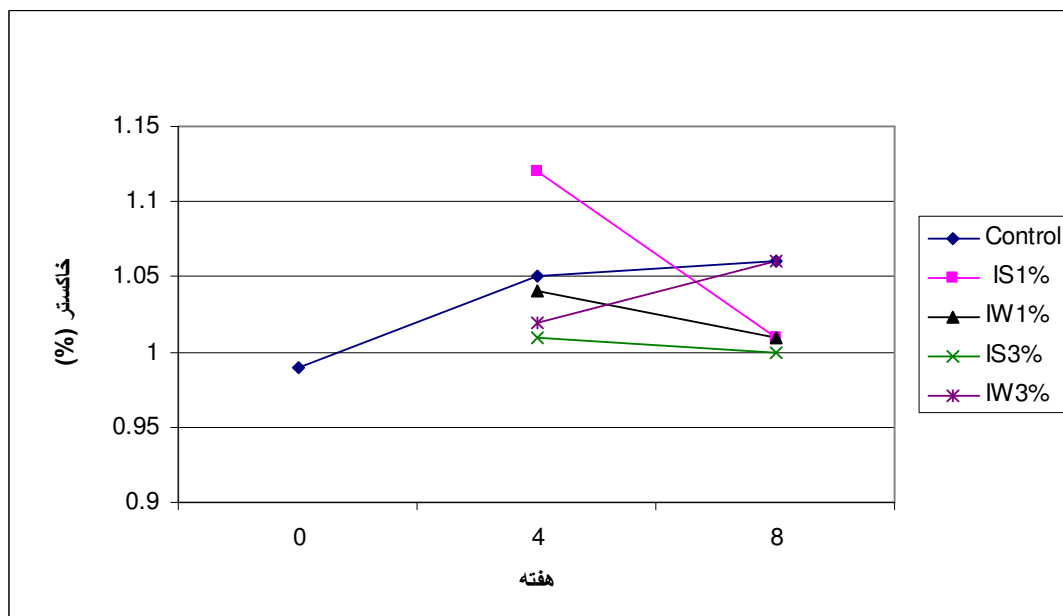


نمودار (۴-۲۲): مقایسه روند میزان چربی لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

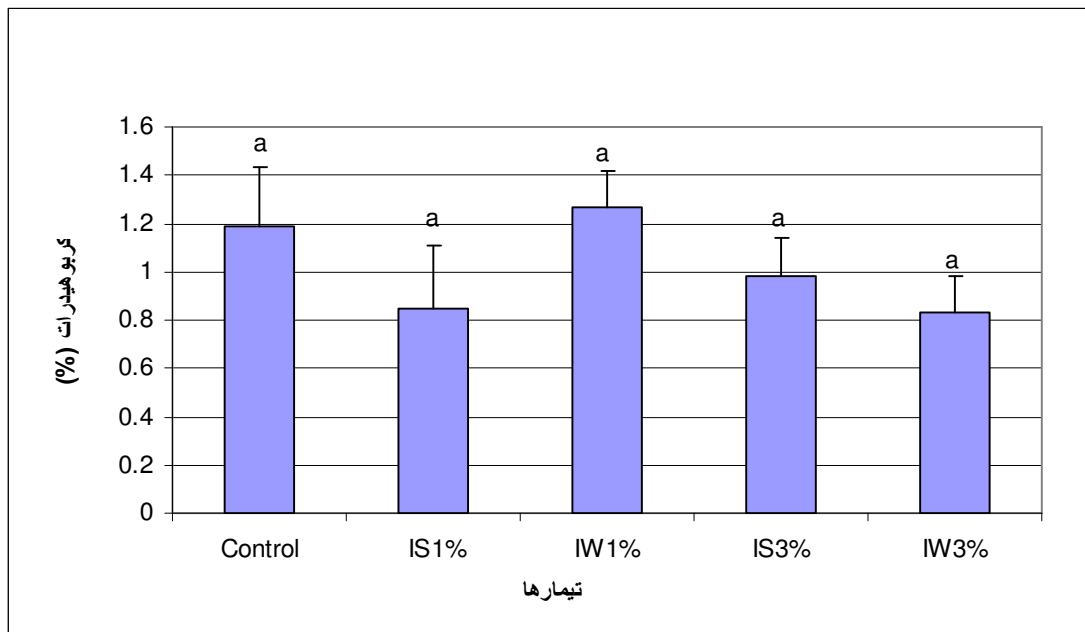


نمودار (۴-۲۳): مقایسه میزان خاکستر لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۲۳) اختلاف معنی داری از نظر میزان خاکستر لاشه بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت ($P > 0.05$).

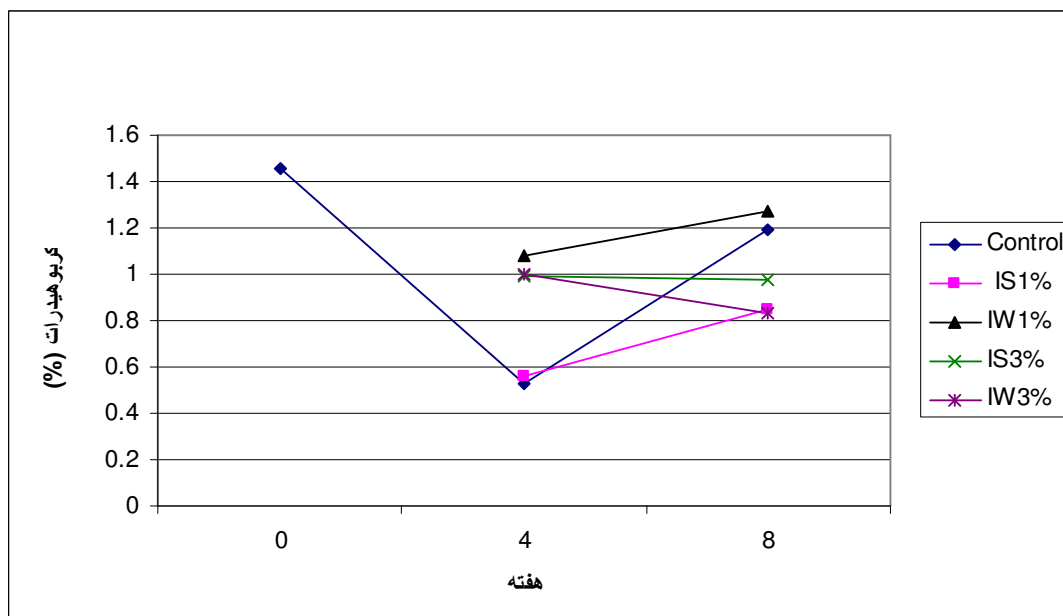


نمودار (۴-۲۴): مقایسه روند میزان خاکستر لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

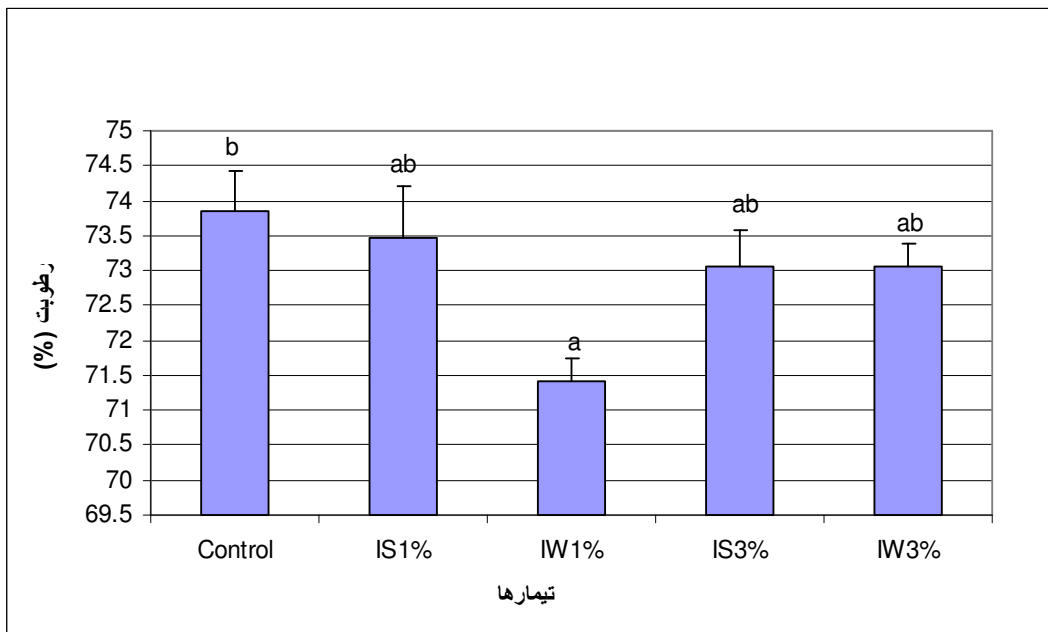


نمودار (۴-۲۵): مقایسه میزان کربوهیدرات لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۲۵) اختلاف معنی داری از نظر میزان کربوهیدرات لاشه بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت ($P > 0.05$).

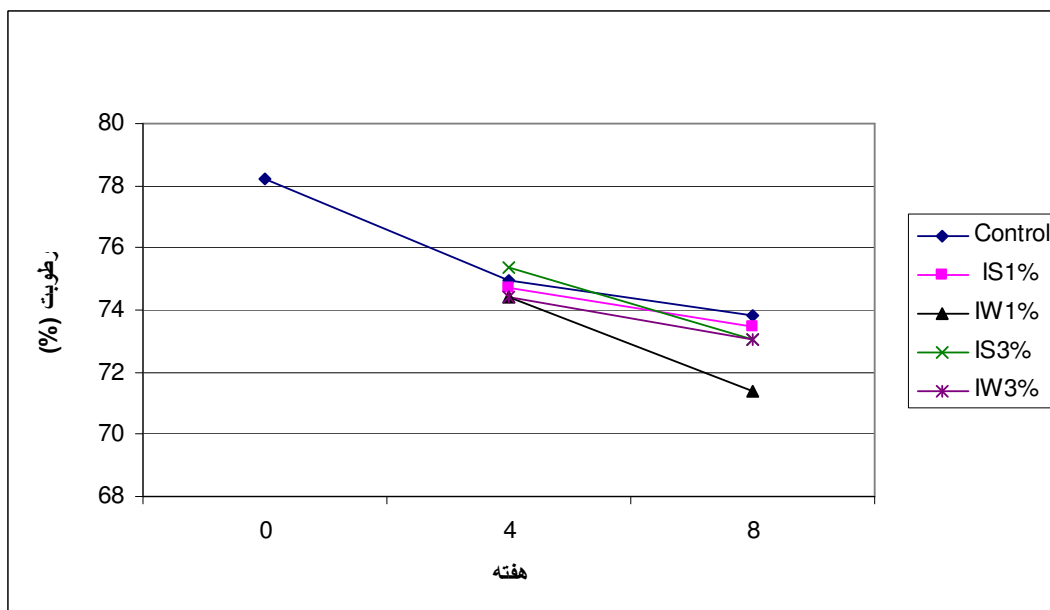


نمودار (۴-۲۶): مقایسه روند میزان کربوهیدرات لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)



نمودار (۴-۲۷): مقایسه میزان رطوبت لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۲۷) اختلاف معنی داری در میزان رطوبت لاشه بین تیمار ایمنووال ۱٪ با گروه شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). گروه شاهد دارای بیشترین میزان رطوبت لاشه بود.



نمودار (۴-۲۸): مقایسه روند میزان رطوبت لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

۴-۳- نتایج شاخص های خونی بچه فیل ماهیان پرورشی

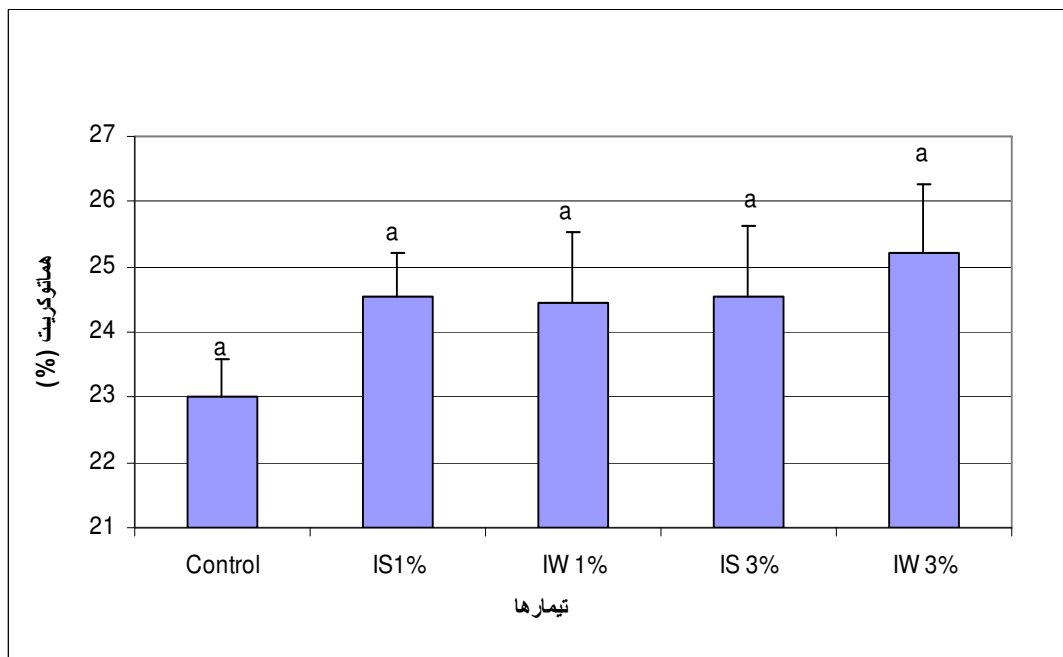
جدول ۴-۳ نتایج شاخص های خونی را در بچه فیل ماهیان پرورشی در پایان هفته هشتم نشان می دهد. ماهیان تغذیه کرده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنووال در سطوح ۱٪ و ۳٪ افزایشی را در شاخص MCV نسبت به گروه شاهد نشان دادند. اختلاف معنی داری بین تیمارهای ایمنووال ۱٪ و ایمنواستر ۳٪ با گروه شاهد در این شاخص مشاهده شد ($P < 0/05$). بیشترین تعداد لنفوسیت در تیمار ایمنووال ۳٪ رویت گردید. از طرف دیگر، ماهیان تغذیه کرده از دو محرک ایمنی مذکور در شاخص هایی نظیر هماتوکریت، هموگلوبین (به استثنای ایمنواستر ۱٪)، WBC (به استثنای ایمنووال ۳٪)، MCH و نوتروفیل افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند که البته این افزایش معنی دار نبود ($P > 0/05$). اختلاف معنی داری بین تیمار ایمنواستر ۳٪ و تیمارهای ایمنواستر ۱٪ و ایمنووال ۳٪ در تعداد ائوزینوفیل ها وجود داشت ($P < 0/05$). همچنین بین تیمارهای ایمنواستر ۳٪ و ایمنووال ۳٪ با گروه شاهد اختلاف معنی داری در تعداد مونوسیت ها ثبت شد ($P < 0/05$). بیشترین تعداد مونوسیت در گروه شاهد رویت گردید (نمودارهای ۴-۲۹ تا ۴-۵۰ و اشکال ۴-۱ تا ۴-۴).

جدول ۳-۴: مقایسه شاخص های خونی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم. (تعداد نمونه: ۹ عدد ماهی به ازای هر تیمار)

شاخص های خونی	شاهد (%)	% ^۱ IS*	% ^۱ IW ⁺	% ^۳ IS	% ^۳ IW
هماتوکریت (%)	۲۳/۰۰ ± ۱/۷۳ ^a	۲۴/۵۵ ± ۲/۰۰ ^a	۲۴/۴۴ ± ۳/۲۸ ^a	۲۴/۵۵ ± ۳/۲۰ ^a	۲۵/۲۲ ± ۳/۱۱ ^a
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	۵/۳۵ ± ۰/۶۱ ^a	۵/۲۷ ± ۰/۷۶ ^a	۵/۷۴ ± ۱/۰۵ ^a	۵/۵۷ ± ۰/۶۲ ^a	۵/۵۰ ± ۰/۵۸ ^a
گلبول قرمز (تعداد × ۱۰ ^۶)	۰/۷۹ ± ۰/۰۸ ^a	۰/۷۲ ± ۰/۱۰ ^a	۰/۶۸ ± ۰/۰۶ ^a	۰/۶۹ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۷۴ ± ۰/۱۳ ^a
گلبول سفید (تعداد × ۱۰ ^۳)	۶۴/۰۵ ± ۱۵/۵۸ ^a	۶۶/۶۶ ± ۱۵/۰۸ ^a	۷۲/۷۲ ± ۱۱/۹۹ ^a	۷۰/۶۶ ± ۱۶/۶۳ ^a	۶۳/۸۳ ± ۱۰/۱۶ ^a
MCV (fl)	۲۹۲/۲۷ ± ۲۲/۰۵ ^a	۳۴۲/۲۲ ± ۵۱/۶۲ ^{ab}	۳۶۰/۴۶ ± ۶۳/۳۴ ^b	۳۶۴/۶۸ ± ۵۶/۸۳ ^b	۳۴۰/۹۸ ± ۳۰/۹۱ ^{ab}
MCH (pg)	۶۷/۸۳ ± ۵/۷۷ ^a	۷۳/۱۳ ± ۱۱/۶۷ ^a	۸۴/۶۱ ± ۱۷/۹۸ ^a	۸۴/۰۱ ± ۱۹/۴۸ ^a	۷۴/۸۵ ± ۱۰/۷۲ ^a
MCHC (%)	۲۳/۲۰ ± ۱/۳۷ ^a	۲۱/۳۸ ± ۱/۸۹ ^a	۲۳/۳۴ ± ۱/۳۸ ^a	۲۲/۸۲ ± ۲/۵۸ ^a	۲۱/۸۸ ± ۱/۸۶ ^a
لنفوسیت (%)	۴۷/۴۴ ± ۸/۲۹ ^{ab}	۴۶/۰۰ ± ۴/۸۴ ^{ab}	۴۳/۶۷ ± ۱۰/۵۴ ^{ab}	۳۷/۳۳ ± ۱۱/۲۲ ^a	۵۳/۱۱ ± ۱۰/۰۳ ^b
نوتروفیل (%)	۲۲/۶۷ ± ۶/۸۱ ^a	۲۸/۷۷ ± ۶/۲۶ ^a	۲۳/۲۲ ± ۱۲/۲۷ ^a	۲۵/۵۵ ± ۸/۰۷ ^a	۲۵/۶۶ ± ۸/۲۹ ^a
ائوزینوفیل (%)	۲۶/۰۰ ± ۵/۳۶ ^{ab}	۲۲/۲۲ ± ۶/۱۸ ^a	۲۹/۸۹ ± ۷/۰۷ ^{ab}	۳۵/۶۶ ± ۱۴/۳۹ ^b	۱۹/۷۷ ± ۳/۹۹ ^a
مونوسیت (%)	۳/۸۹ ± ۱/۹۰ ^b	۲/۷۷ ± ۲/۲۲ ^{ab}	۳/۲۲ ± ۱/۷۱ ^{ab}	۱/۴۴ ± ۱/۱۳ ^a	۱/۳۳ ± ۰/۸۶ ^a

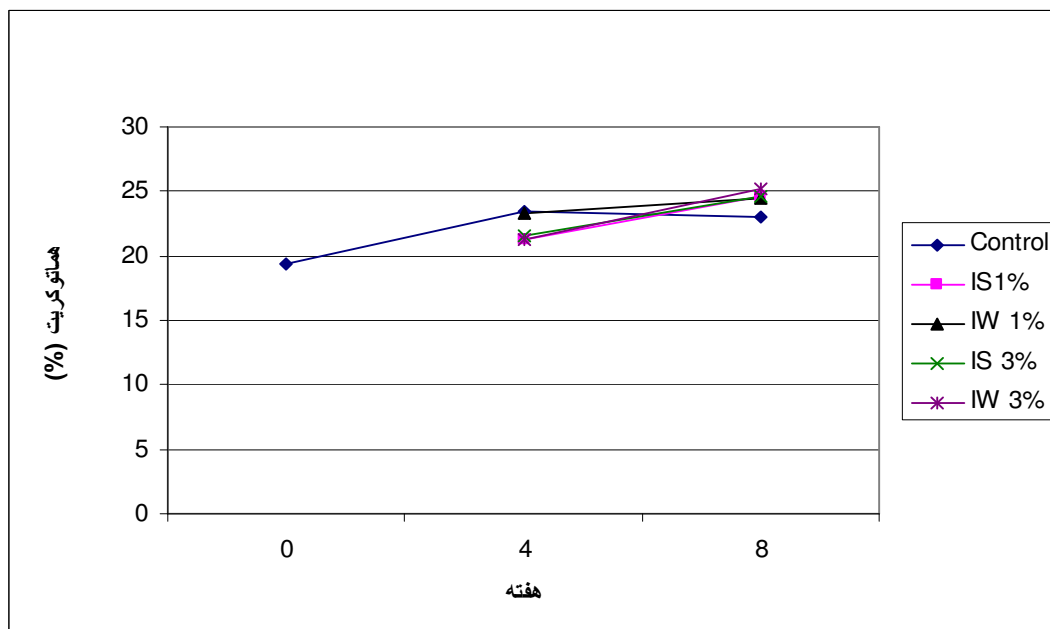
اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).

*IS- ایمنواستر
+IW- ایمنووال

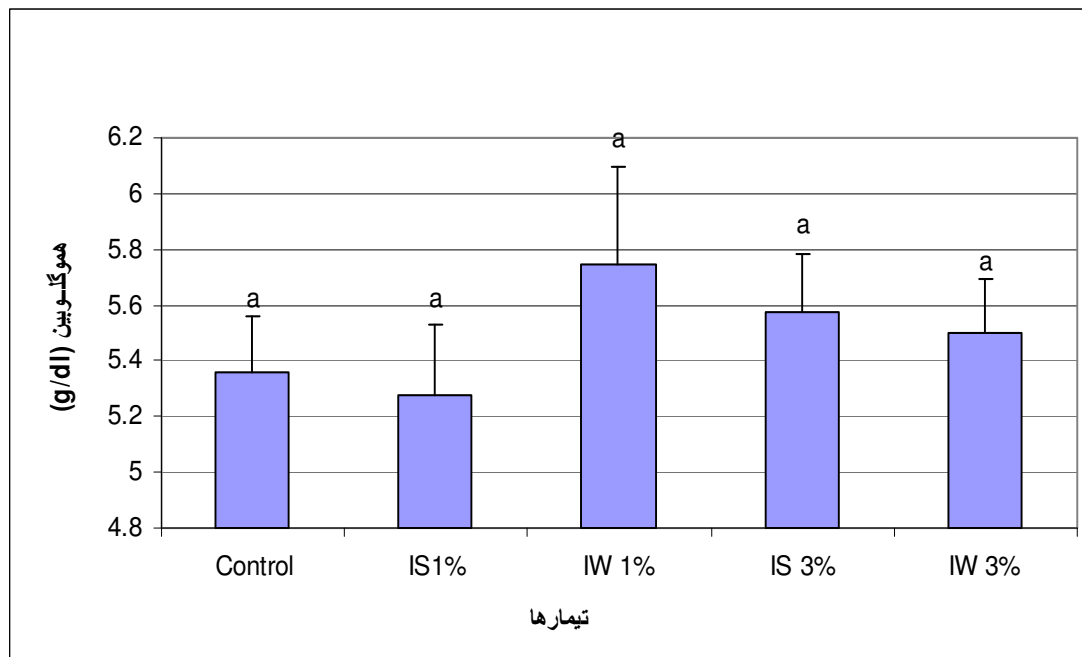


نمودار (۴-۲۹): مقایسه میزان هماتوکریت خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۲۹) اختلاف معنی داری در میزان هماتوکریت بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

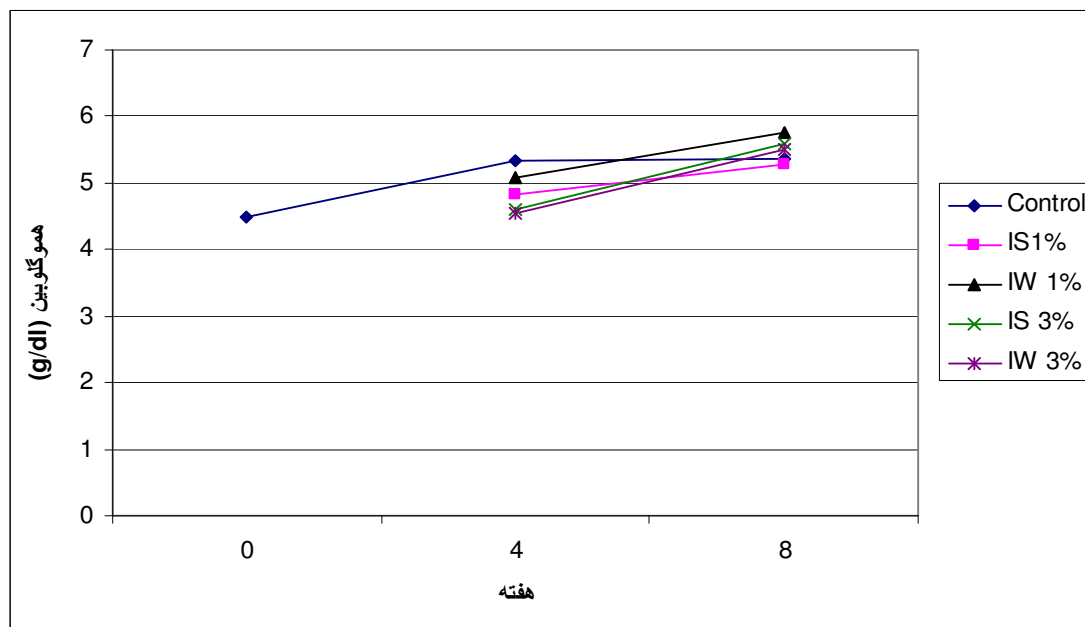


نمودار (۴-۳۰): مقایسه روند میزان هماتوکریت خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

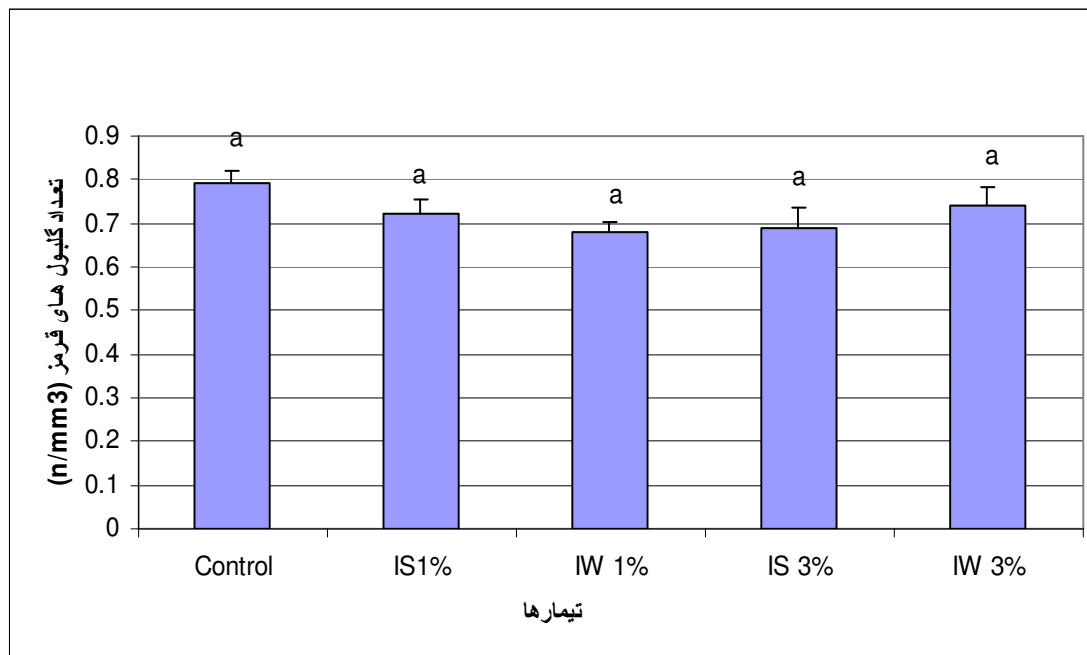


نمودار (۴-۳۱): مقایسه میزان هموگلوبین خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۳۱) اختلاف معنی داری در میزان هموگلوبین بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تیمارهای ایمنووال ۱٪ و ۳٪ و ایمنوآستر ۳٪ افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

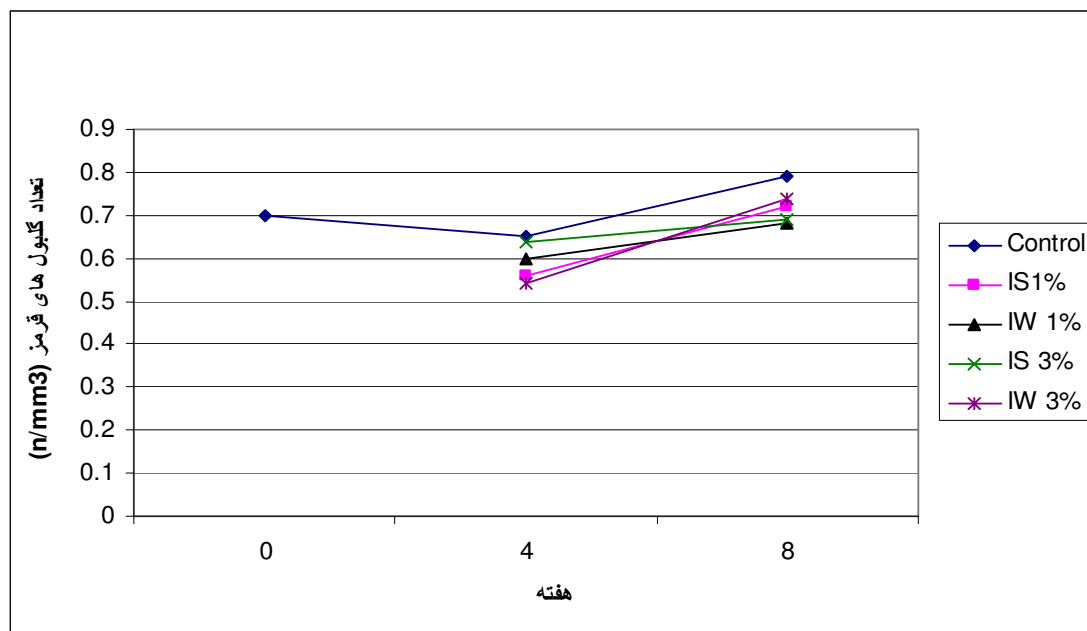


نمودار (۴-۳۲): مقایسه روند میزان هموگلوبین خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

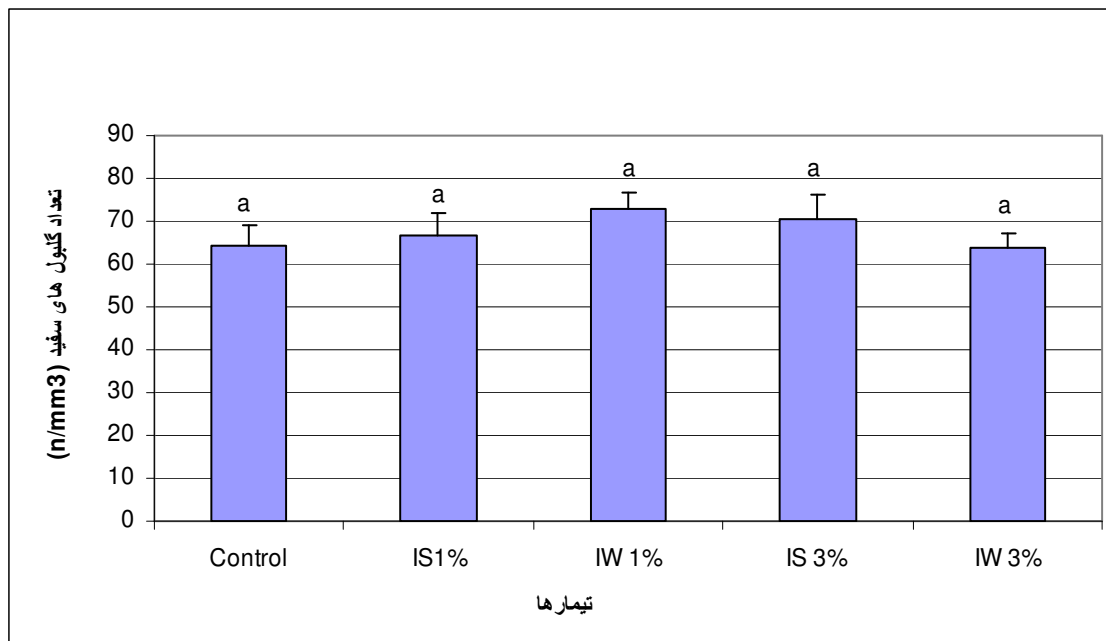


نمودار (۴-۳۳): مقایسه تعداد گلبول های قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنوال)

مطابق نمودار (۴-۳۳) اختلاف معنی داری در تعداد گلبول های قرمز بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$).

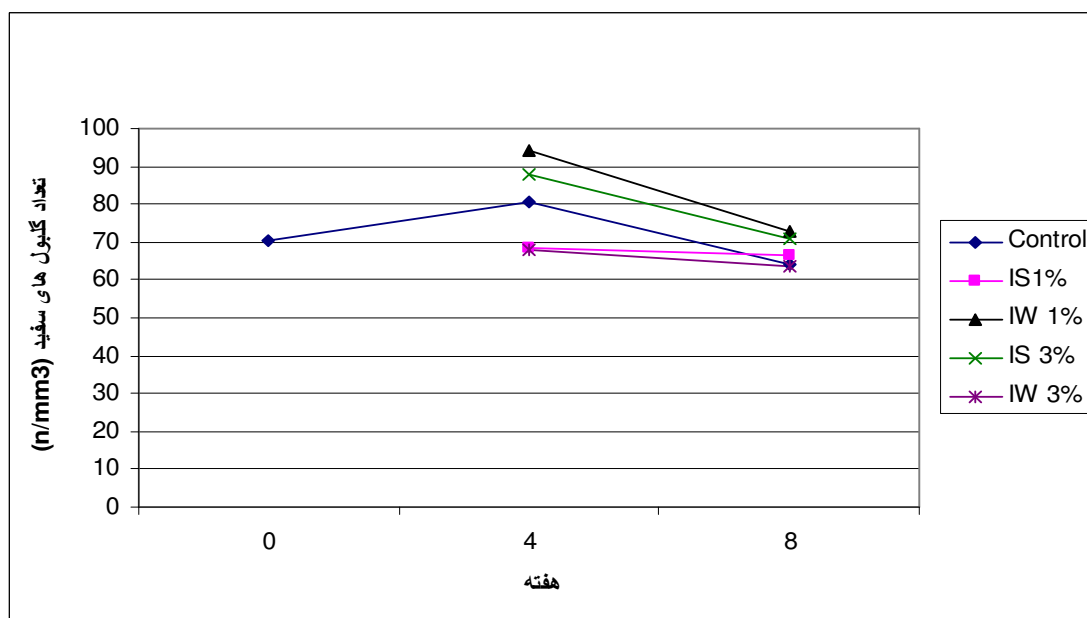


نمودار (۴-۳۴): مقایسه روند تعداد گلبول های قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنوال)

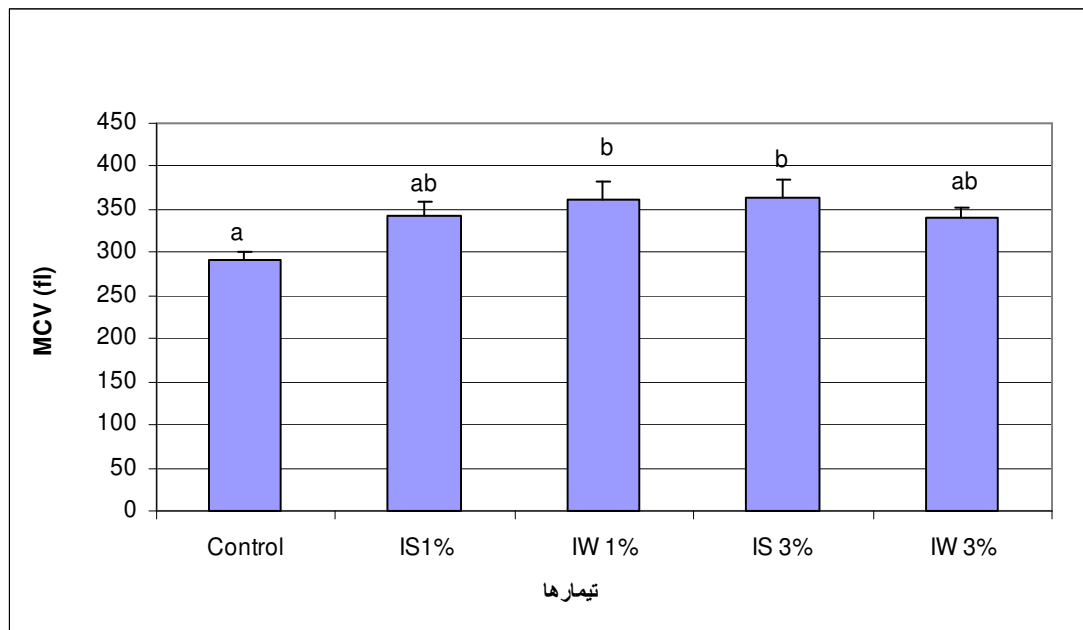


نمودار (۴-۳۵): مقایسه تعداد گلبول های سفید خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۳۵) اختلاف معنی داری در تعداد گلبول های سفید بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها به استثنای ایمنووال ۳٪ افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

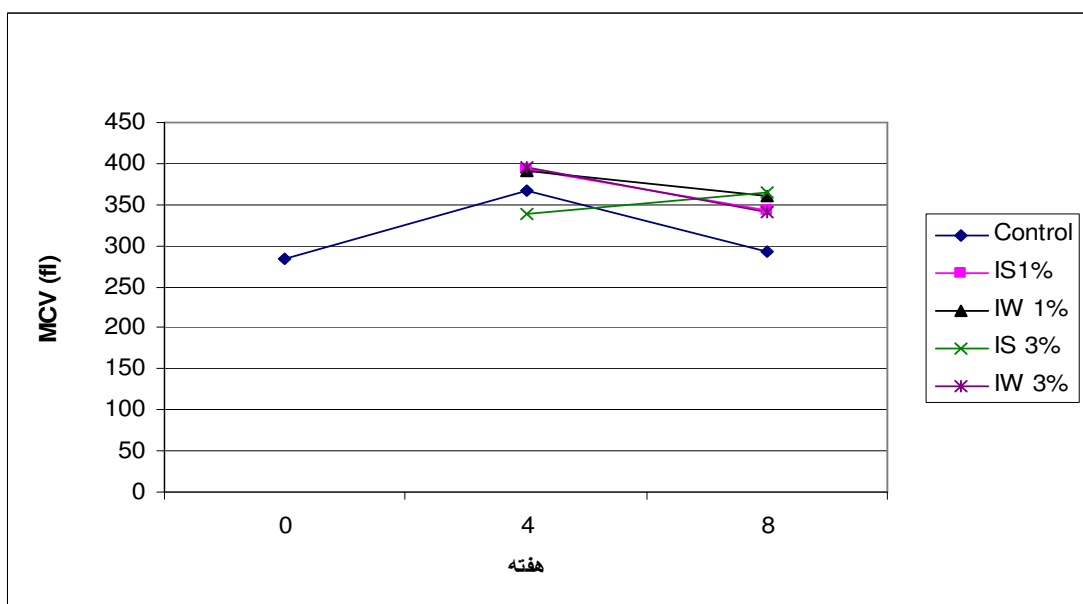


نمودار (۴-۳۶): مقایسه روند تعداد گلبول های سفید خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

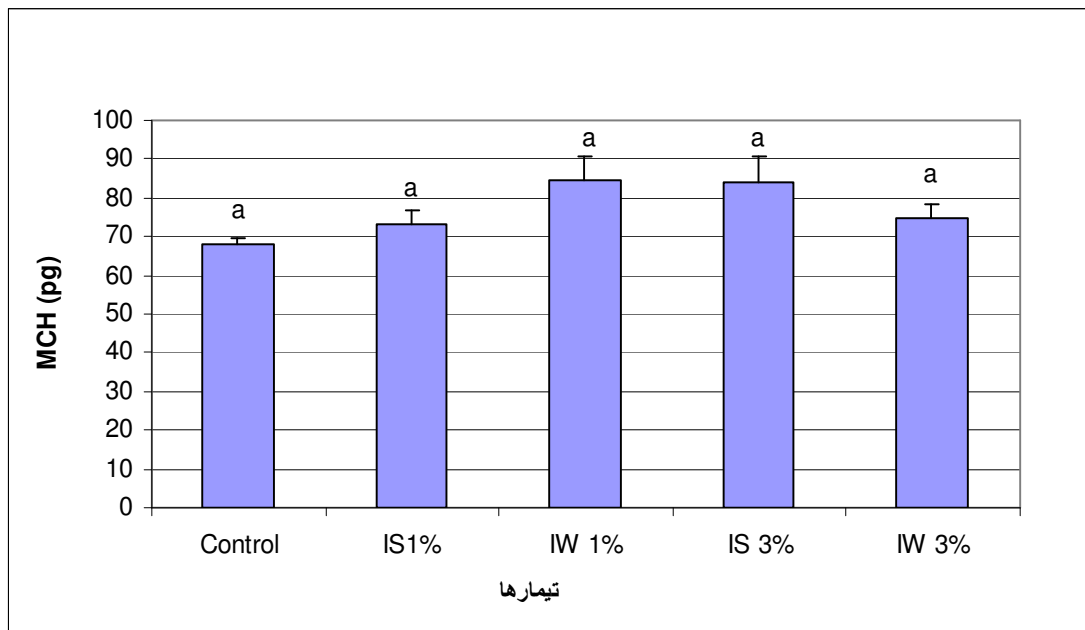


نمودار (۴-۳۷): مقایسه متوسط حجم گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۳۷) تمامی تیمارهای آزمایشی افزایشی را نسبت به گروه شاهد در شاخص MCV نشان دادند. اختلاف معنی داری بین تیمارهای ایمنووال ۱٪ و ایمنوستر ۳٪ با گروه شاهد ثبت گردید ($P < 0.05$). تیمار ایمنوستر ۳٪ دارای بیشترین میزان MCV بود.

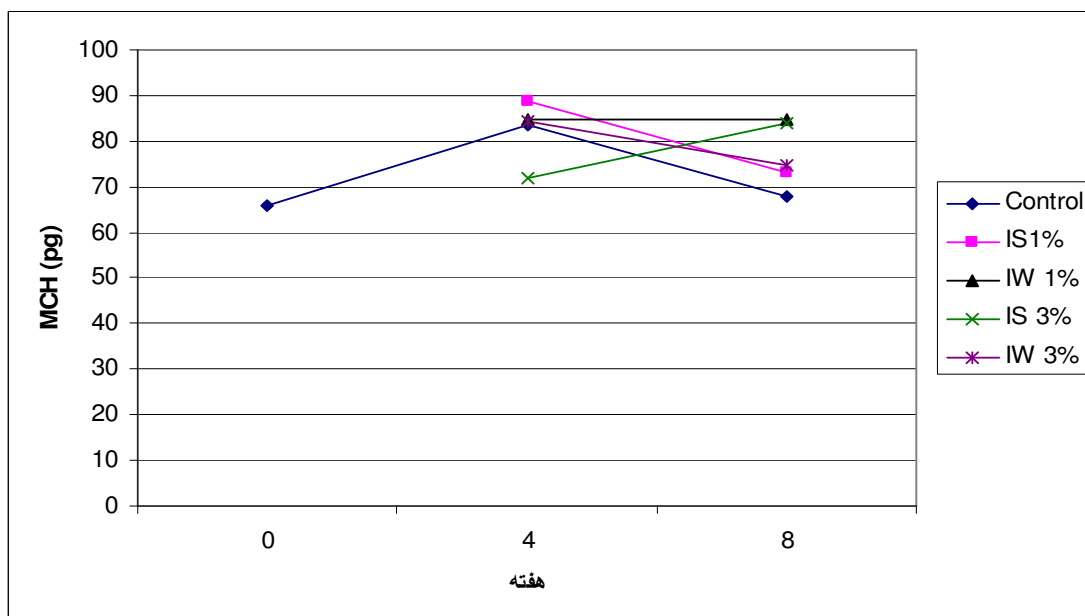


نمودار (۴-۳۸): مقایسه روند متوسط حجم گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

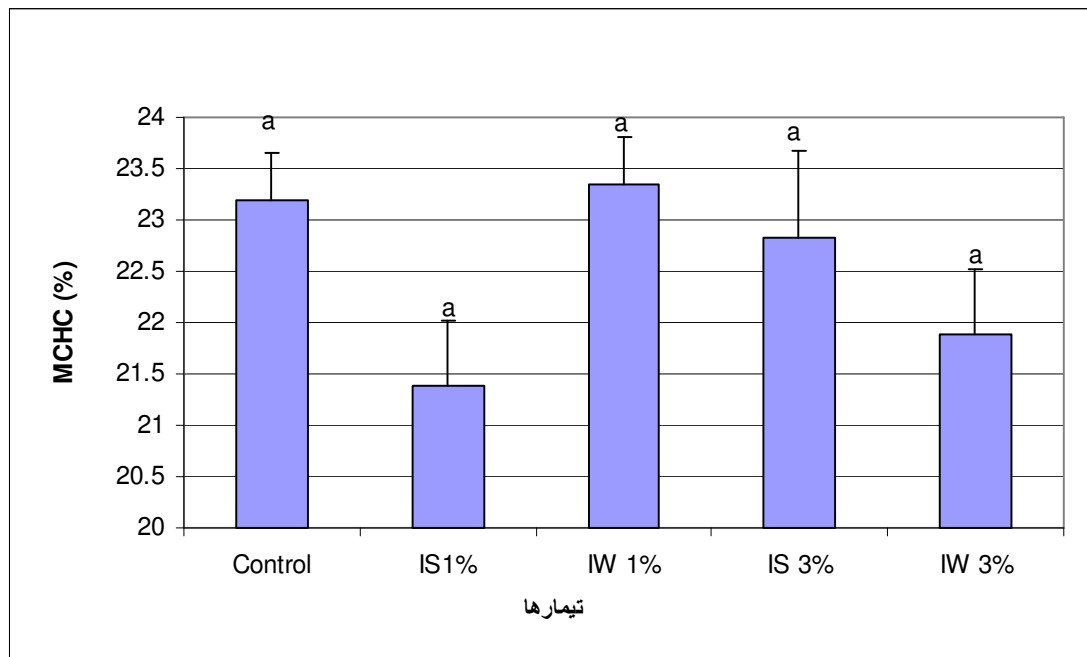


نمودار (۴-۳۹): مقایسه متوسط هموگلوبین گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۳۹) اختلاف معنی داری در میزان MCH بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

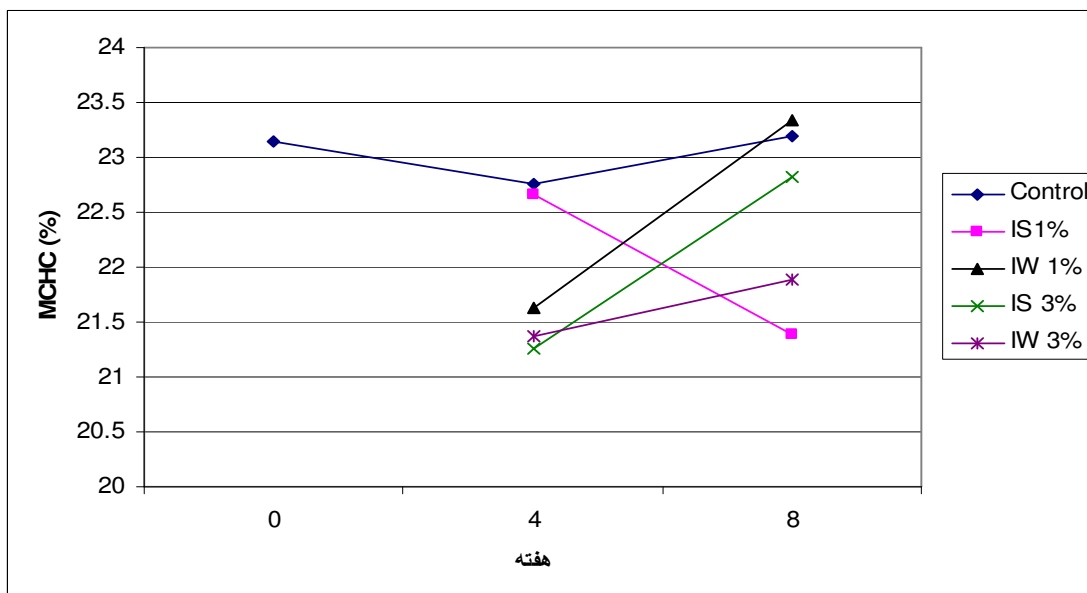


نمودار (۴-۴۰): مقایسه روند متوسط هموگلوبین گلبول قرمز خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

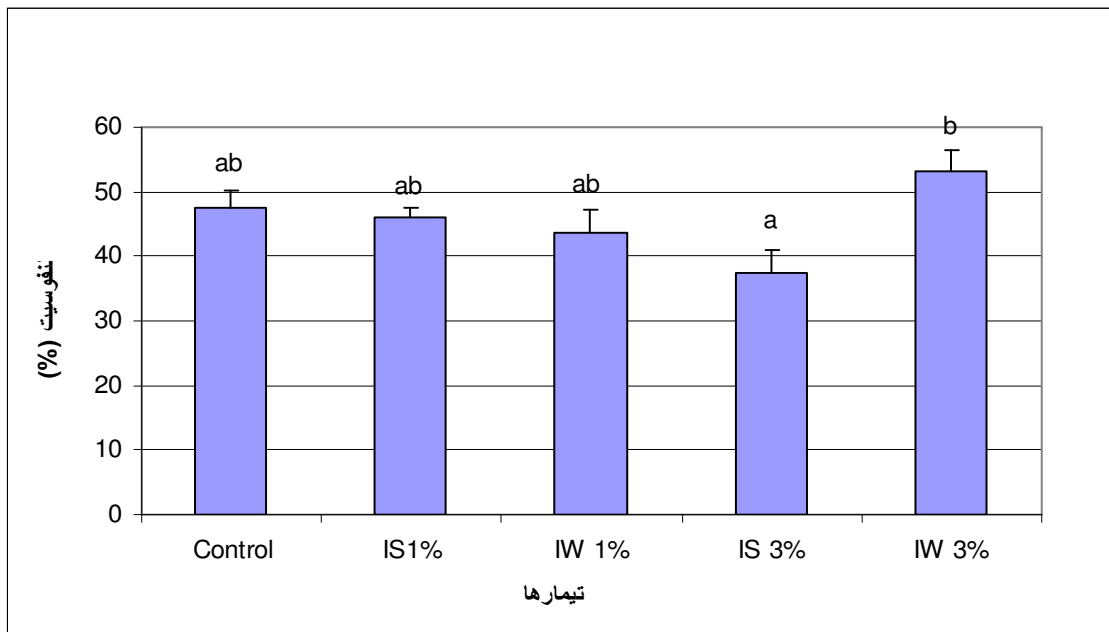


نمودار (۴-۴۱): مقایسه متوسط غلظت هموگلوبین سلولی خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۴۱) اختلاف معنی داری در میزان MCHC بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). تیمار ایمنووال ۱٪ دارای بیشترین میزان MCHC بود.

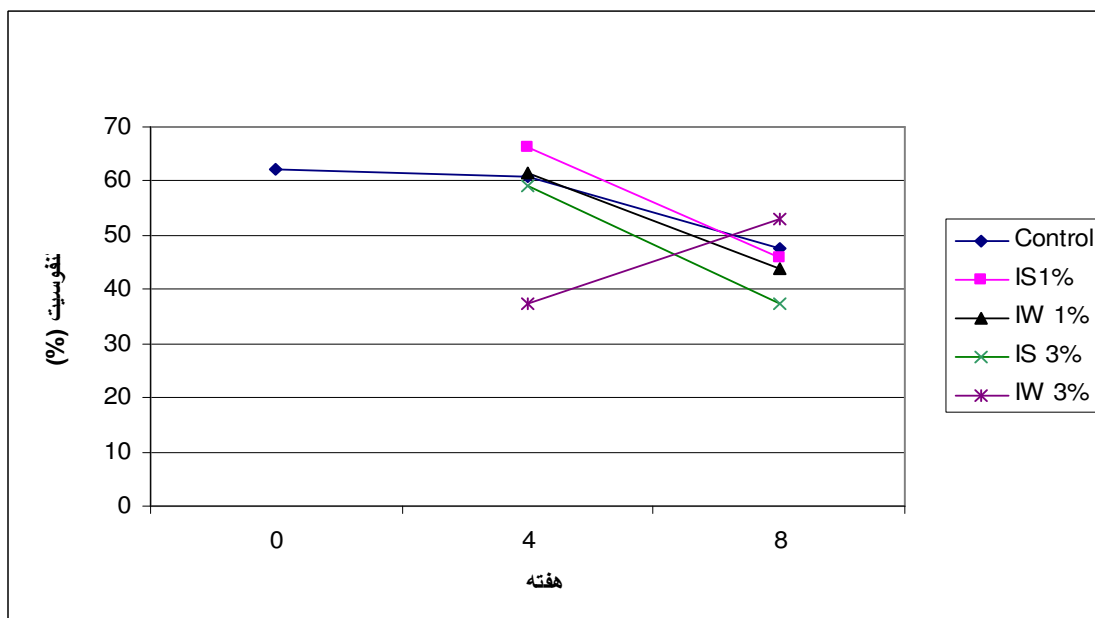


نمودار (۴-۴۲): مقایسه روند متوسط غلظت هموگلوبین سلولی خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

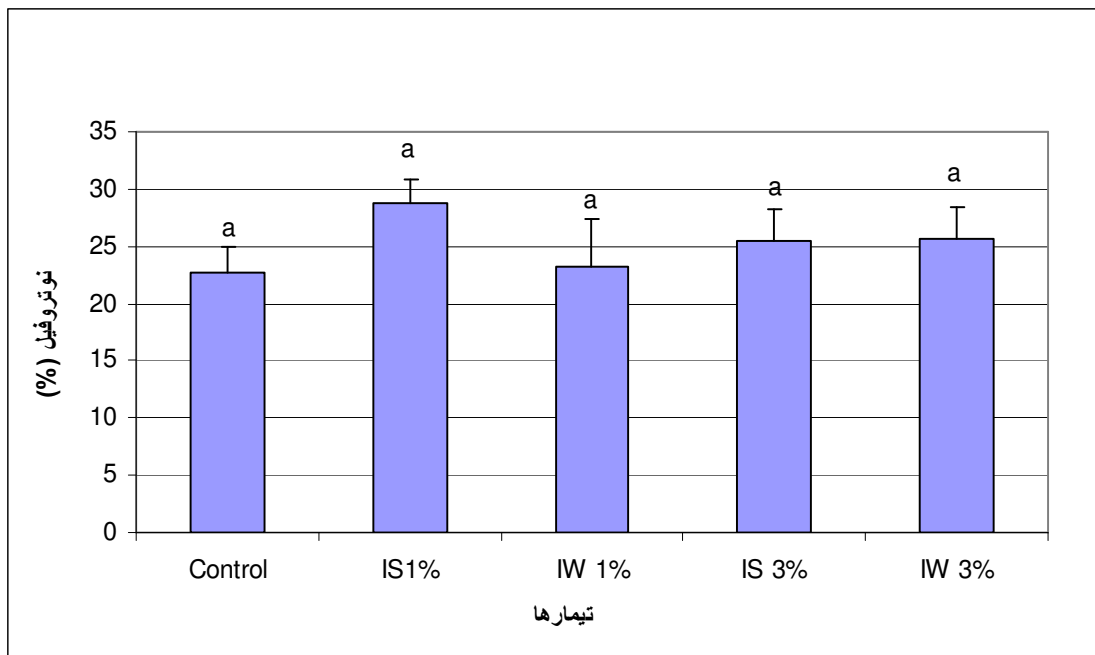


نمودار (۴-۴۳): مقایسه تعداد لنفوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۴۳) اختلاف معنی داری در تعداد لنفوسیت ها بین تیمار ایمنوستر ۳٪ با تیمار ایمنووال ۳٪ مشاهده گردید ($P < 0.05$). تیمار ایمنووال ۳٪ دارای بیشترین میزان لنفوسیت بود.

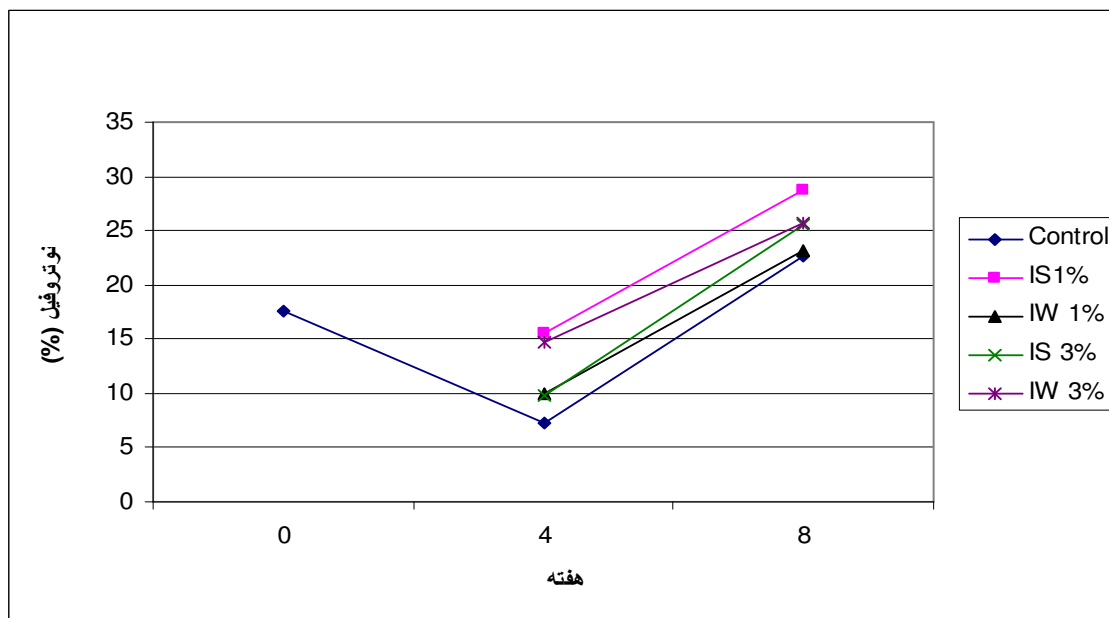


نمودار (۴-۴۴): مقایسه روند تعداد لنفوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

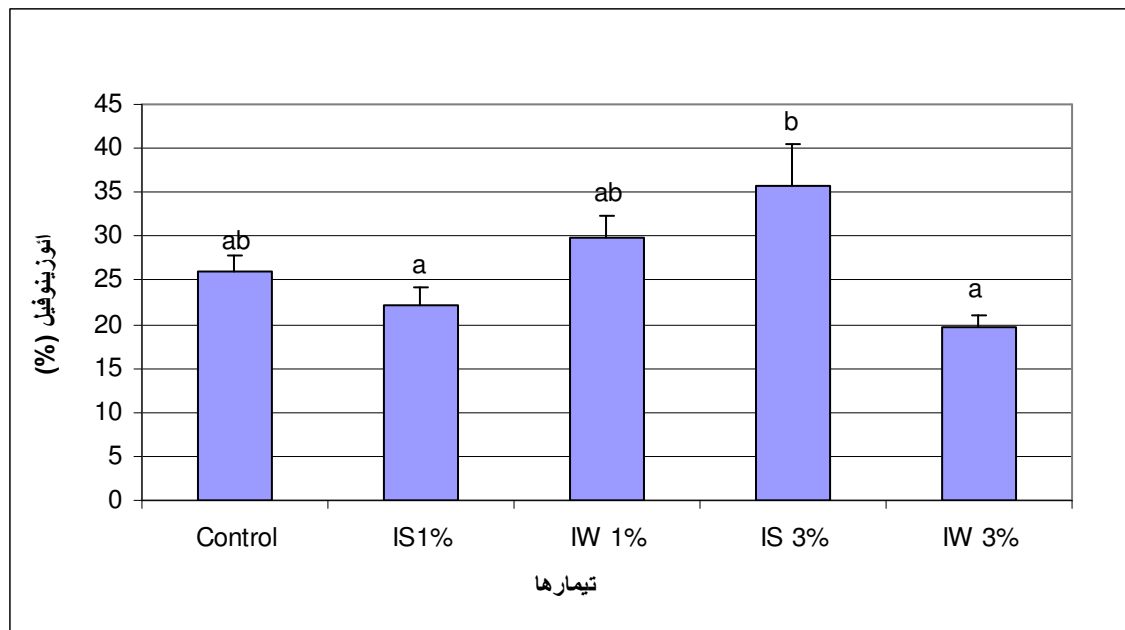


نمودار (۴-۴۵): مقایسه تعداد نوتروفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۴۵) اختلاف معنی داری در تعداد نوتروفیل ها بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

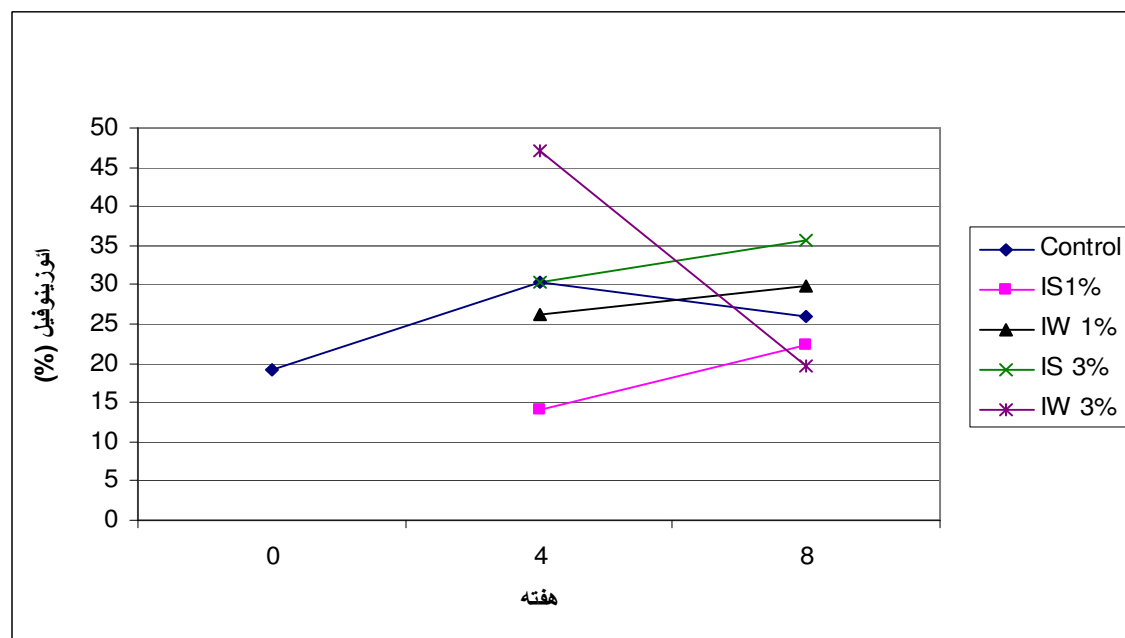


نمودار (۴-۴۶): مقایسه روند تعداد نوتروفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

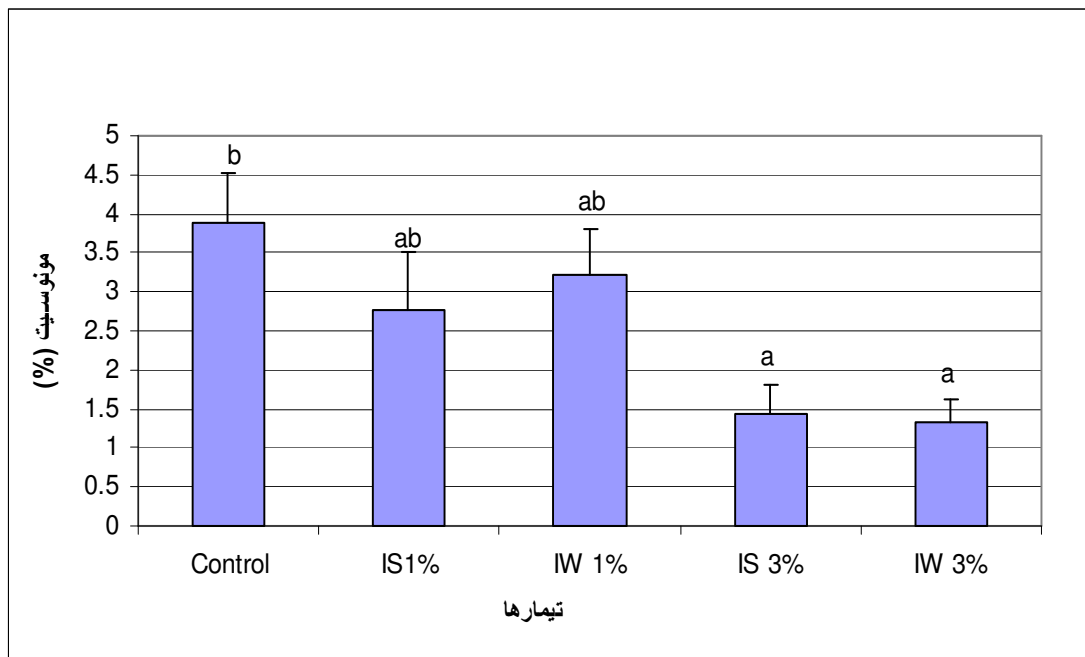


نمودار (۴-۴۷): مقایسه تعداد ائوزینوفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۴۷) اختلاف معنی داری در تعداد ائوزینوفیل ها بین تیمار ایمنوآستر ۳٪ و تیمارهای ایمنوآستر ۱٪ و ایمنووال ۳٪ مشاهده گردید ($P < 0.05$).

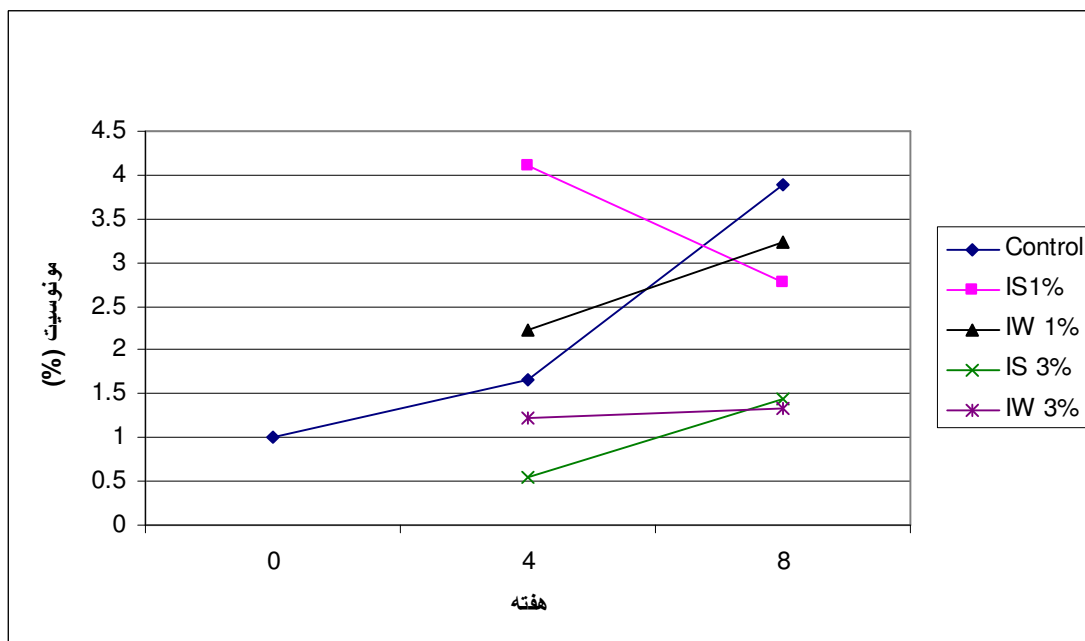


نمودار (۴-۴۸): مقایسه روند تعداد ائوزینوفیل خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)



نمودار (۴-۴۹): مقایسه تعداد مونوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۴۹) اختلاف معنی داری در تعداد مونوسیت ها بین تیمارهای ایمنوستر و ایمنووال در سطح ۳٪ با گروه شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). گروه شاهد دارای بیشترین تعداد مونوسیت بود.



نمودار (۴-۵۰): مقایسه روند تعداد مونوسیت خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

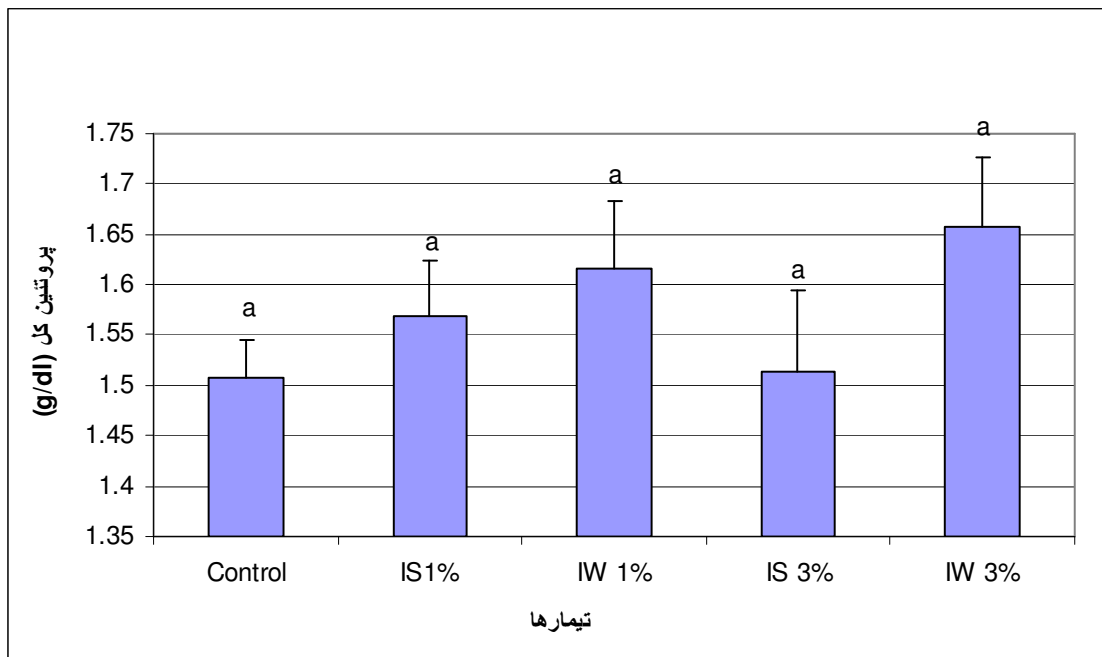
۴-۴- نتایج شاخص های بیوشیمیایی بچه فیل ماهیان پرورشی

جدول ۴-۴ نتایج شاخص های بیوشیمیایی را در بچه فیل ماهیان پرورشی در پایان هفته هشتم نشان می دهد. ماهیان تغذیه کرده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنوال در سطوح ۱٪ و ۳٪ افزایش را در شاخص هایی نظیر میزان پروتئین کل، آلبومین (به استثنای تیمار ایمنواستر ۳٪) و یون پتاسیم نشان دادند که این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). همچنین اختلاف معنی داری بین تیمار ایمنوال ۳٪ با سایر گروه های آزمایشی از نظر میزان یون Ca^{2+} موجود در سرم خون مشاهده گردید ($P < 0/05$). تیمار ایمنوال ۱٪ دارای بیشترین میزان یون Ca^{2+} بود (نمودارهای ۴-۵۱ تا ۴-۶۴).

جدول ۴-۴: مقایسه شاخص های بیوشیمیایی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم. (تعداد نمونه: ۹ عدد ماهی به ازای هر تیمار)

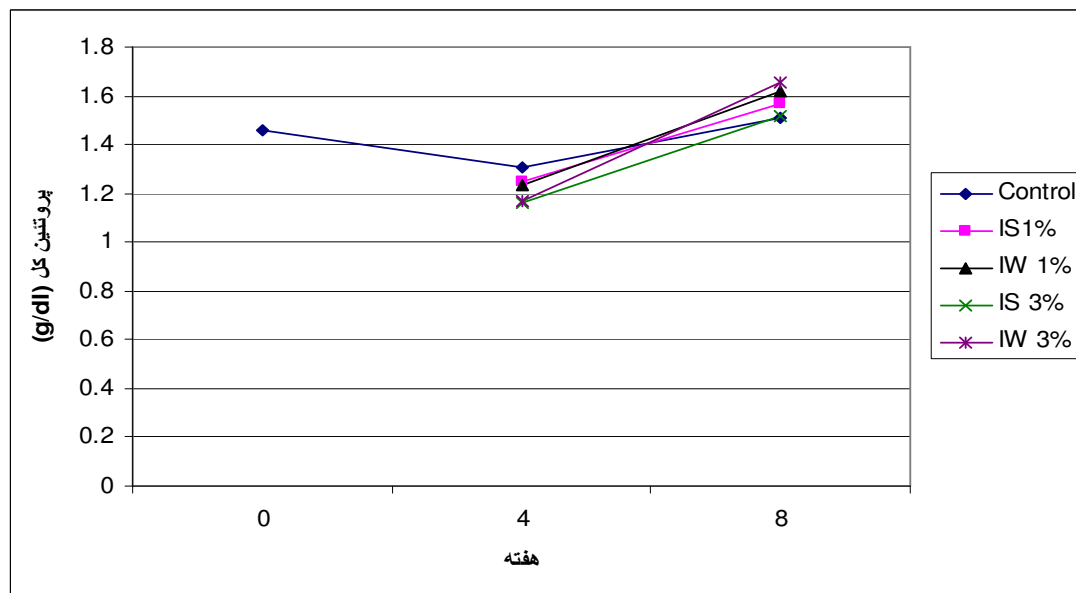
شاخص های بیوشیمیایی	شاهد (%۰)	%۱ IS*	%۱ IW ⁺	%۳ IS	%۳ IW
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	۱/۵۰ ± ۰/۱۰ ^a	۱/۵۶ ± ۰/۱۶ ^a	۱/۶۱ ± ۰/۲۰ ^a	۱/۵۱ ± ۰/۲۴ ^a	۱/۶۵ ± ۰/۲۱ ^a
آلبومین (گرم در دسی لیتر)	۰/۶۰ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۶۲ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۶۱ ± ۰/۰۷ ^a	۰/۵۹ ± ۰/۱۰ ^a	۰/۶۸ ± ۰/۰۸ ^a
اسمولاریته (میلی اسمول در لیتر)	۳۱۴/۸۸ ± ۱۰/۵۵ ^a	۳۱۴/۶۶ ± ۹/۲۴ ^a	۳۱۳/۵۶ ± ۸/۵۴ ^a	۳۱۸/۵۵ ± ۷/۷۱ ^a	۳۱۵/۸۹ ± ۹/۷۰ ^a
Na ⁺ (میلی اکی والان در لیتر)	۱۳۱/۰۰ ± ۲/۰۶ ^a	۱۳۱/۶۶ ± ۲/۲۹ ^a	۱۲۹/۸۹ ± ۲/۶۱ ^a	۱۳۰/۰۰ ± ۲/۹۵ ^a	۱۳۰/۳۳ ± ۲/۸۲ ^a
K ⁺ (میلی اکی والان در لیتر)	۱/۹۶ ± ۰/۳۵ ^a	۲/۰۴ ± ۰/۲۴ ^a	۱/۹۷ ± ۰/۱۸ ^a	۲/۱۲ ± ۰/۲۸ ^a	۲/۲۳ ± ۰/۲۷ ^a
Mg ²⁺ (میلی اکی والان در لیتر)	۱/۲۲ ± ۰/۲۱ ^a	۱/۱۵ ± ۰/۱۷ ^a	۱/۱۸ ± ۰/۱۲ ^a	۱/۱۴ ± ۰/۲۰ ^a	۱/۱۳ ± ۰/۱۹ ^a
Ca ²⁺ (میلی گرم در دسی لیتر)	۵/۰۹ ± ۰/۶۰ ^b	۵/۲۰ ± ۰/۵۳ ^b	۵/۵۰ ± ۰/۷۲ ^b	۴/۹۶ ± ۰/۹۵ ^b	۳/۶۲ ± ۱/۱۸ ^a

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).
 IS* - ایمنواستر IW⁺ - ایمنووال

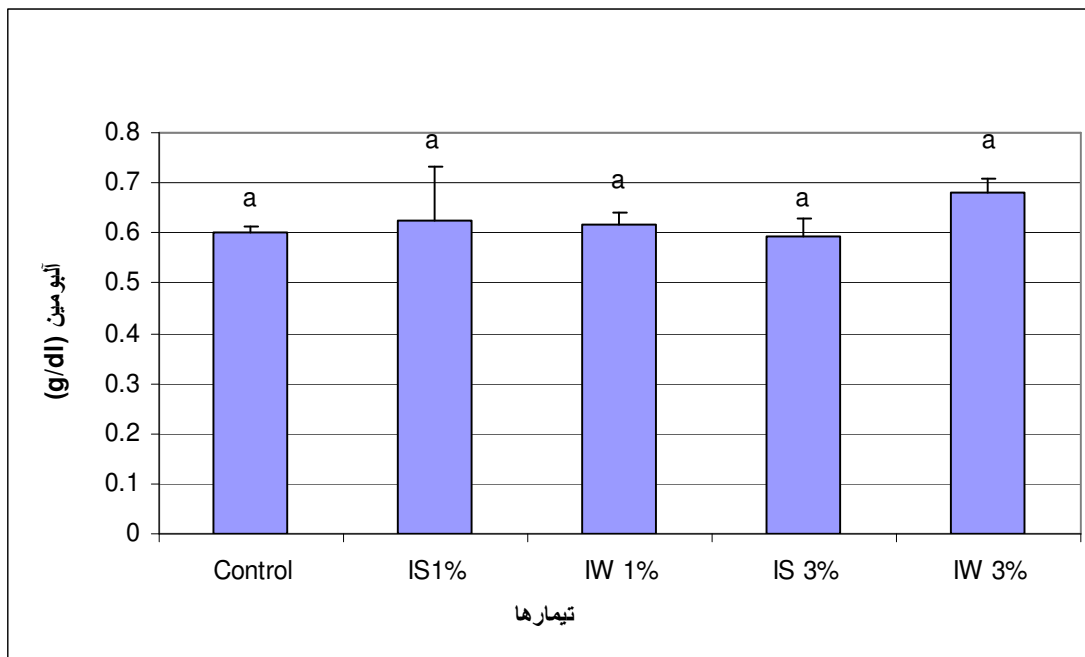


نمودار (۴-۵۱): مقایسه میزان پروتئین کل سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۵۱) اختلاف معنی داری در میزان پروتئین سرم بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

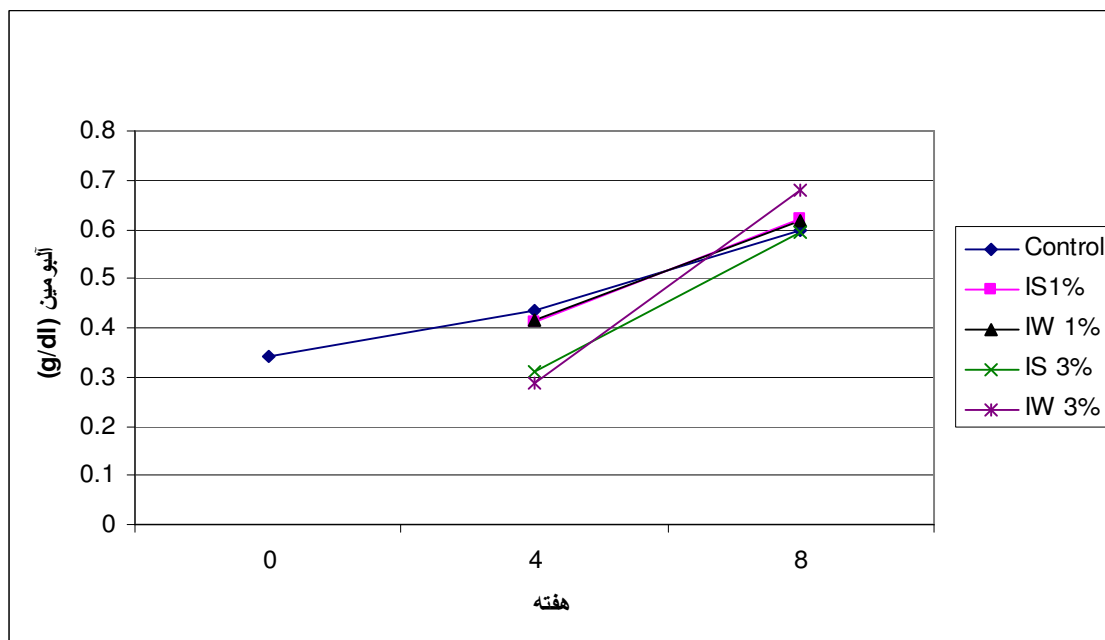


نمودار (۴-۵۲): مقایسه روند میزان پروتئین کل سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

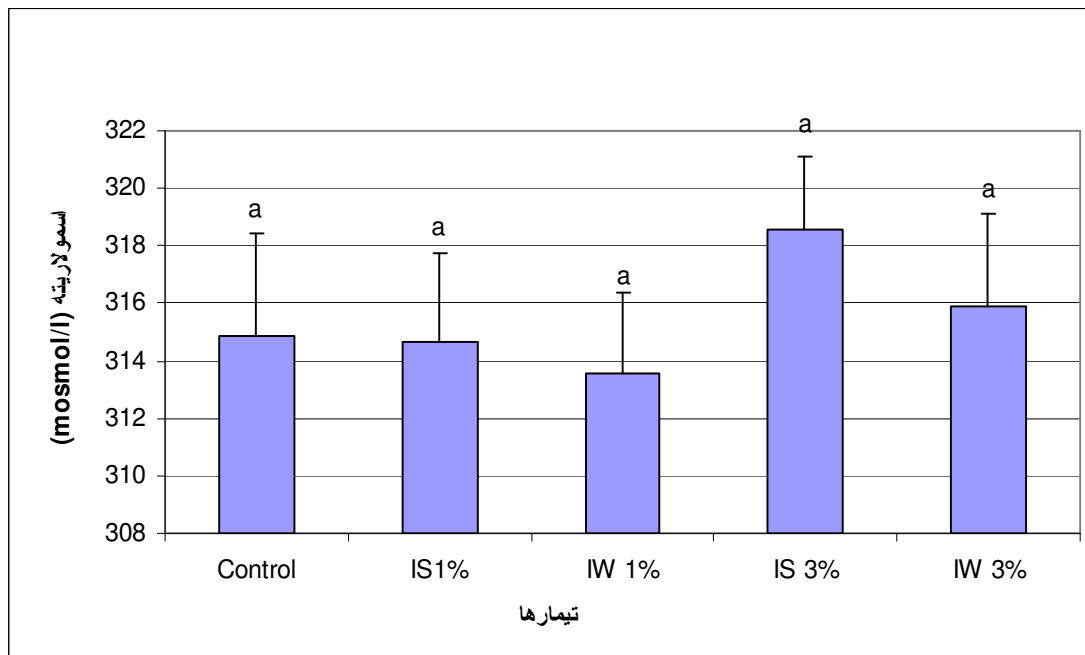


نمودار (۴-۵۳): مقایسه میزان آلبومین سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۵۳) اختلاف معنی داری در میزان آلبومین سرم خون بین گروه های آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها (به استثنای ایمنوآستر ۳٪) افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

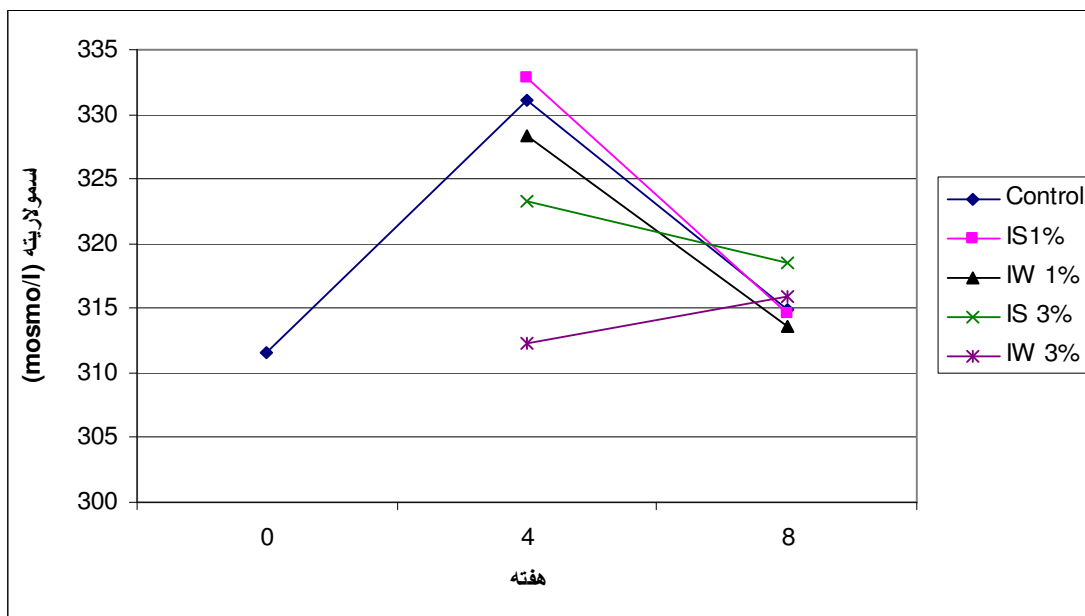


نمودار (۴-۵۴): مقایسه روند میزان آلبومین سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

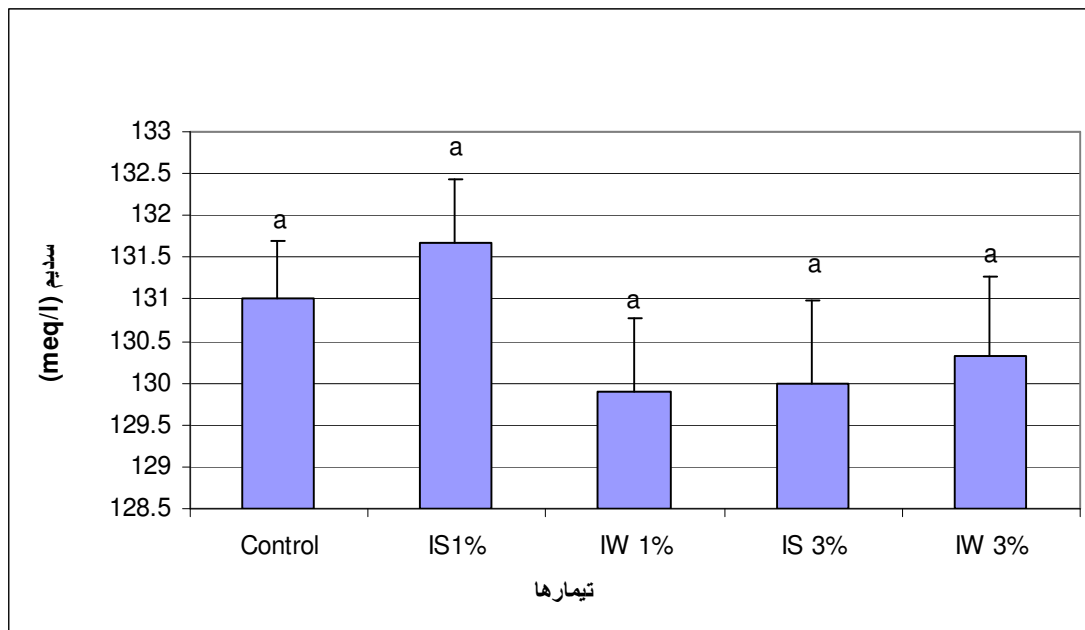


نمودار (۴-۵۵): مقایسه میزان اسمولاریته سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۵۵) اختلاف معنی داری در میزان اسمولاریته سرم خون بین گروه های آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). تیمار ایمنواستر ۳٪ دارای بالاترین میزان اسمولاریته بود.

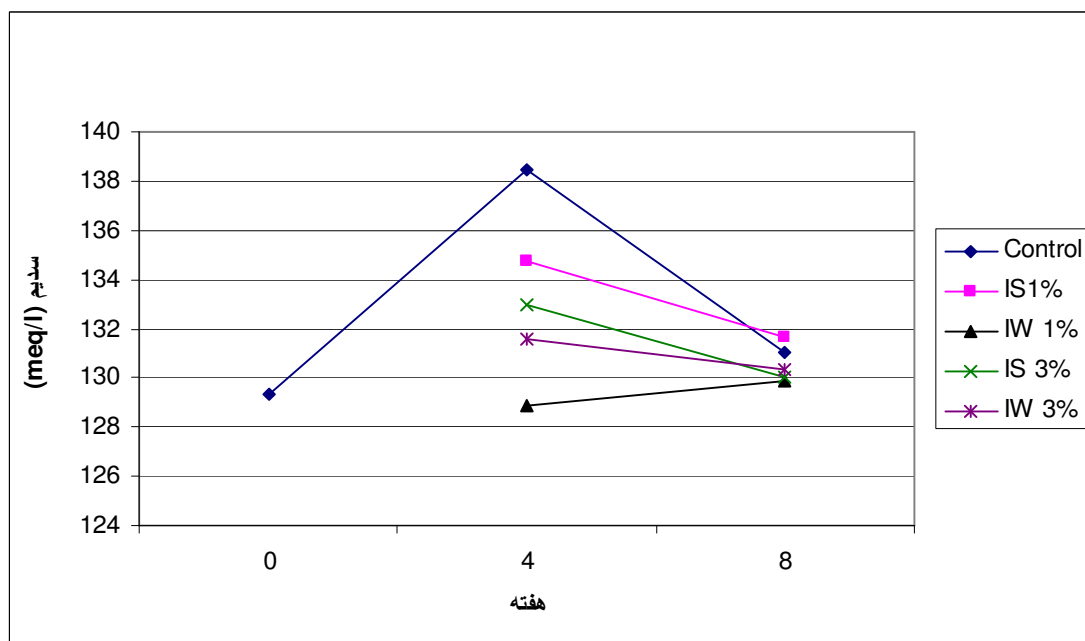


نمودار (۴-۵۶): مقایسه روند میزان اسمولاریته سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

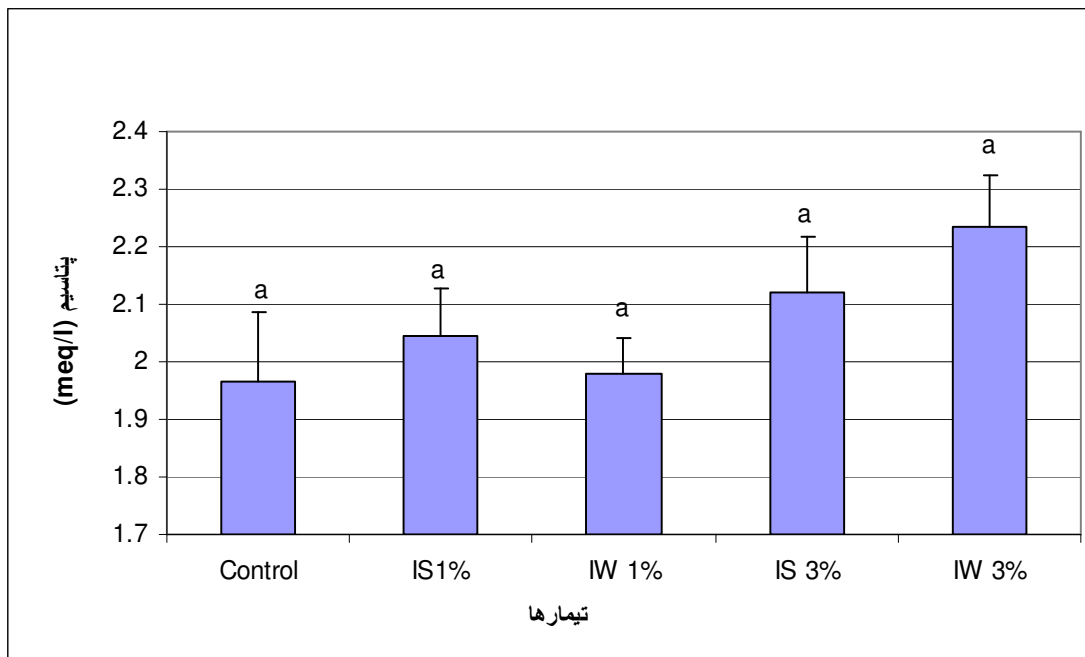


نمودار (۴-۵۷): مقایسه میزان یون سدیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنوال)

مطابق نمودار (۴-۵۷) اختلاف معنی داری در میزان یون سدیم سرم خون بین گروه های آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). تیمار ایمنواستر ۱٪ دارای بالاترین میزان یون سدیم بود.

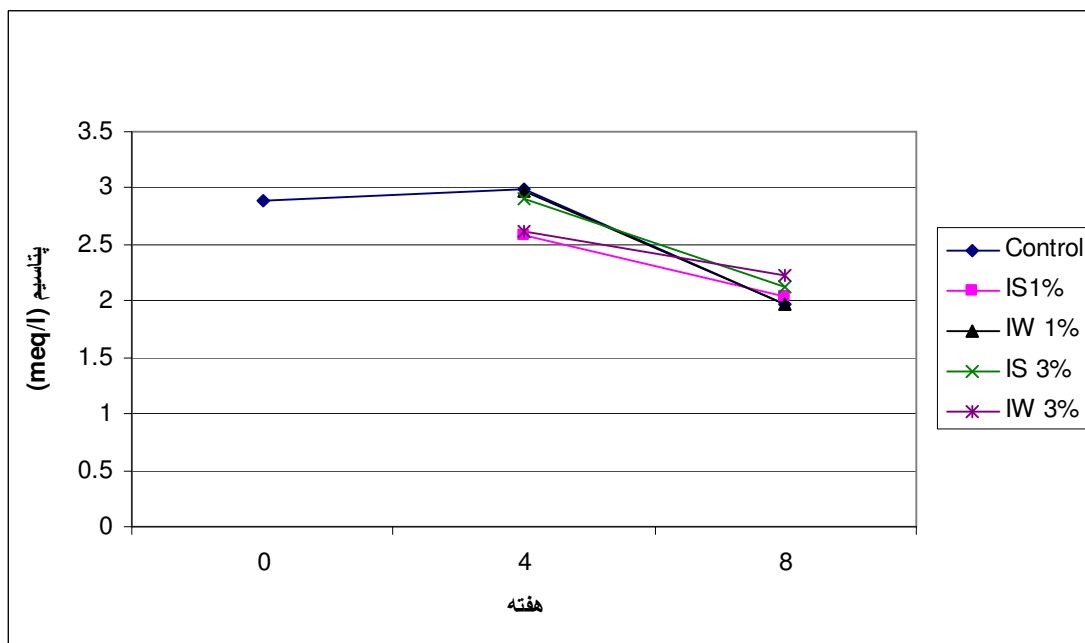


نمودار (۴-۵۸): مقایسه روند میزان یون سدیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنوال)

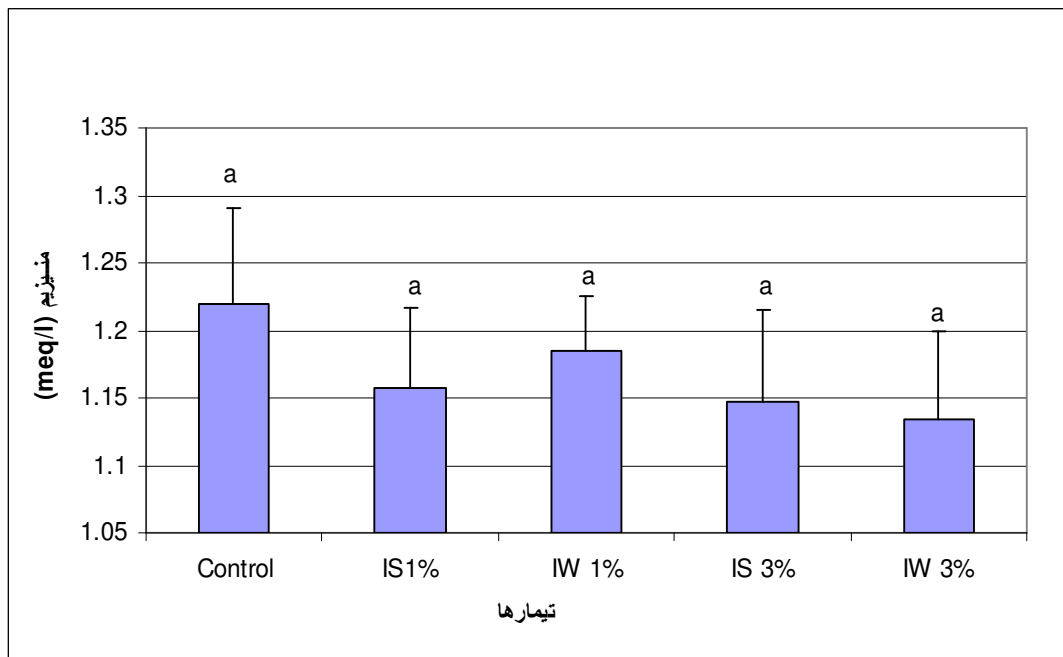


نمودار (۴-۵۹): مقایسه میزان یون پتاسیم سرم بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۵۹) اختلاف معنی داری در میزان یون پتاسیم سرم خون بین گروه های آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

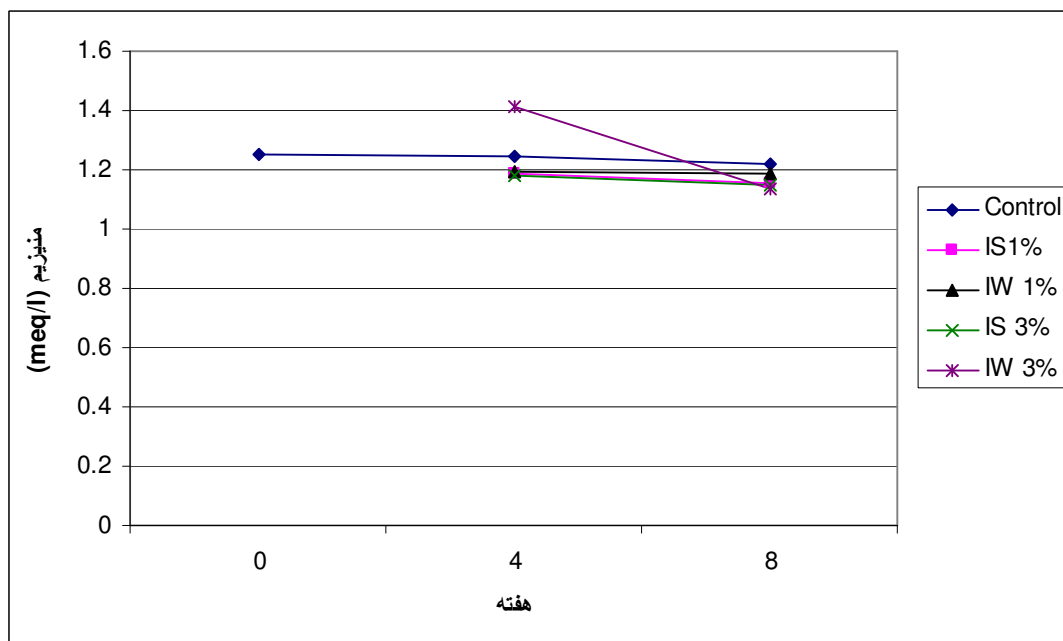


نمودار (۴-۶۰): مقایسه روند میزان یون پتاسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوستر و IW = ایمنووال)

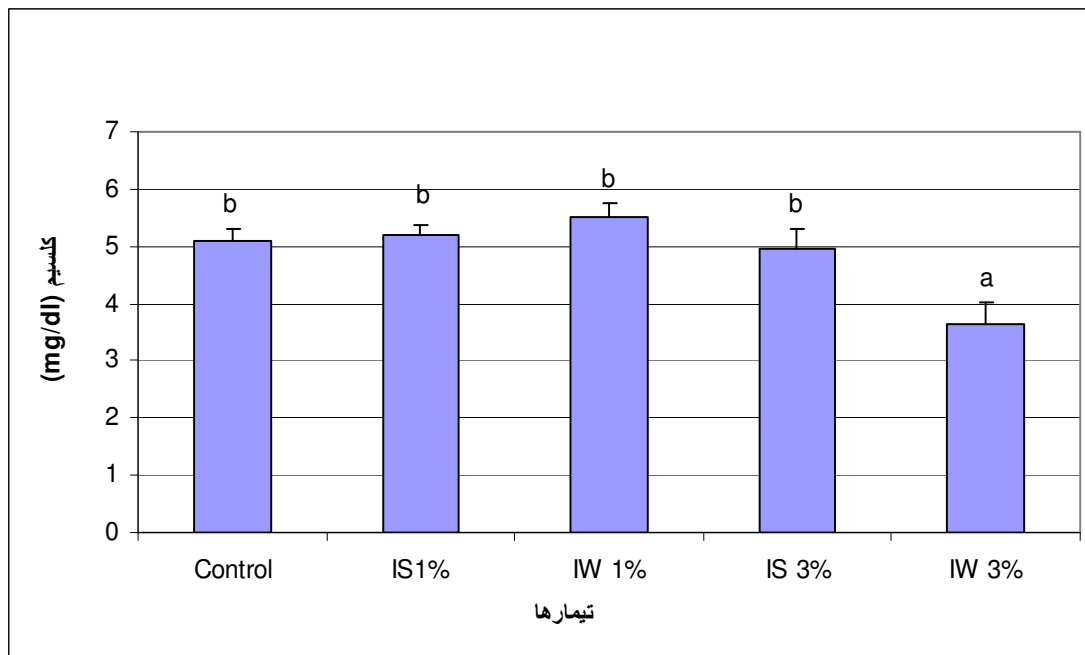


نمودار (۴-۶۱): مقایسه میزان یون منیزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۶۱) اختلاف معنی داری در میزان یون منیزیم سرم خون بین گروه های آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

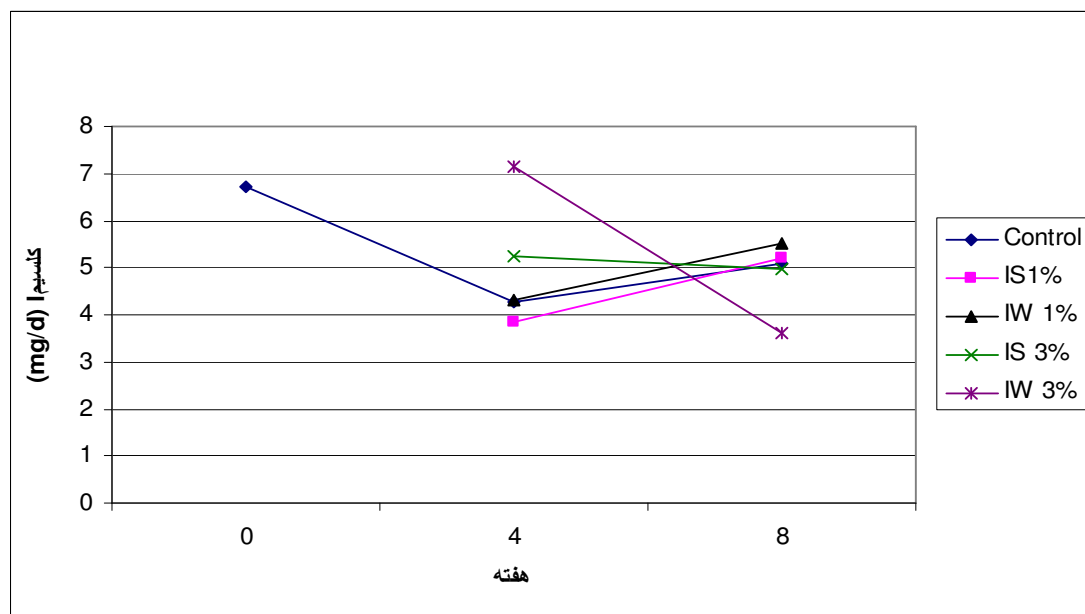


نمودار (۴-۶۲): مقایسه روند میزان یون منیزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنواستر و IW = ایمنووال)



نمودار (۴-۶۳): مقایسه میزان یون کلسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۴-۶۳) اختلاف معنی داری در میزان یون کلسیم سرم خون بین تیمار ایمنووال ۳٪ با سایر گروه های آزمایشی مشاهده گردید ($P < 0.05$). تیمار ایمنووال ۱٪ دارای بیشترین میزان کلسیم بود.



نمودار (۴-۶۴): مقایسه روند میزان یون کلسیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

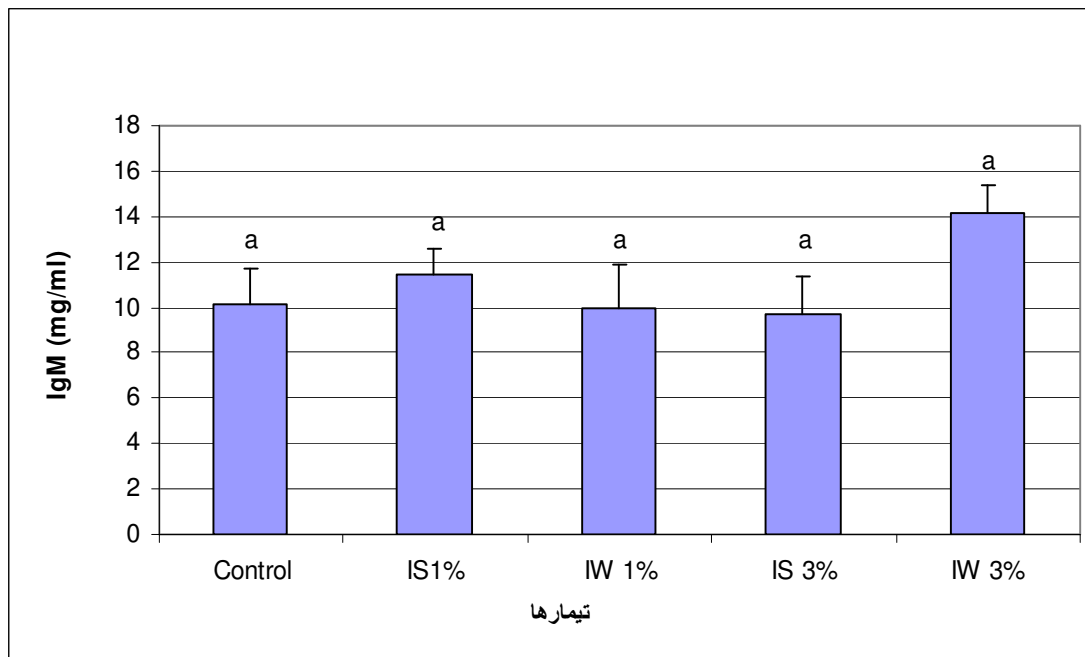
۵-۴- نتایج شاخص های ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی

جدول ۵-۴ نتایج شاخص های ایمنی را در بچه فیل ماهیان پرورشی در پایان هفته هشتم نشان می دهد. ماهیان تغذیه کرده از ایمنواستر ۱٪ و ایمنوال ۳٪ به طور غیر معنی داری دارای سطوح بالاتری از IgM نسبت به گروه شاهد بودند ($P > 0/05$). از طرف دیگر، ماهیان تغذیه کرده از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنوال در سطوح ۱٪ و ۳٪ افزایشی را در شاخص لیزوزیم نسبت به گروه شاهد نشان دادند که این افزایش معنی دار نبود ($P > 0/05$). (نمودارهای ۴-۶۵ تا ۴-۶۸).

جدول ۴-۵: مقایسه شاخص های ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان هفته هشتم. (تعداد نمونه: ۹ عدد ماهی به ازای هر تیمار)

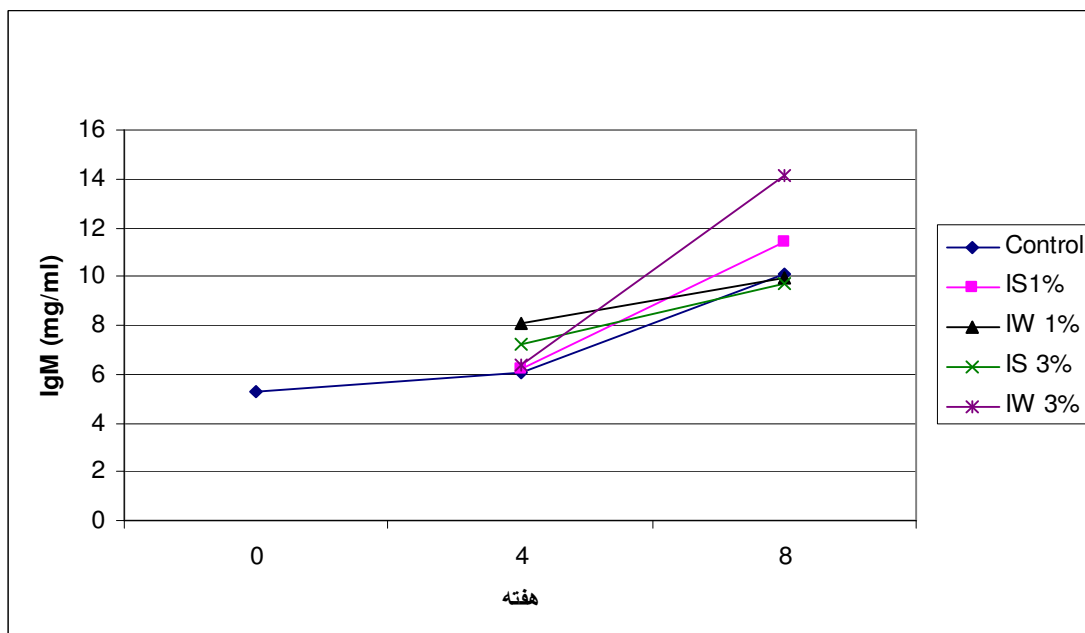
شاخص های ایمنی	شاهد (%۰)	IS* %۱	IW ⁺ %۱	IS %۳	IW %۳
IgM (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۰/۱۳ ± ۴/۶۵ ^a	۱۱/۴۱ ± ۳/۴۶ ^a	۹/۹۴ ± ۵/۸۰ ^a	۹/۷۱ ± ۴/۸۴ ^a	۱۴/۱۲ ± ۳/۶۸ ^a
لیزوزیم (میکروگرم در میلی لیتر)	۰/۳۸ ± ۰/۷۸ ^a	۱/۸۱ ± ۳/۶۵ ^a	۰/۸۲ ± ۱/۶۷ ^a	۰/۴۵ ± ۱/۳۷ ^a	۱/۳۸ ± ۲/۸۰ ^a

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف مشابه هستند، فاقد اختلاف معنی دار هستند (P>۰/۰۵).
 IS* - ایمنواستر IW⁺ - ایمنووال

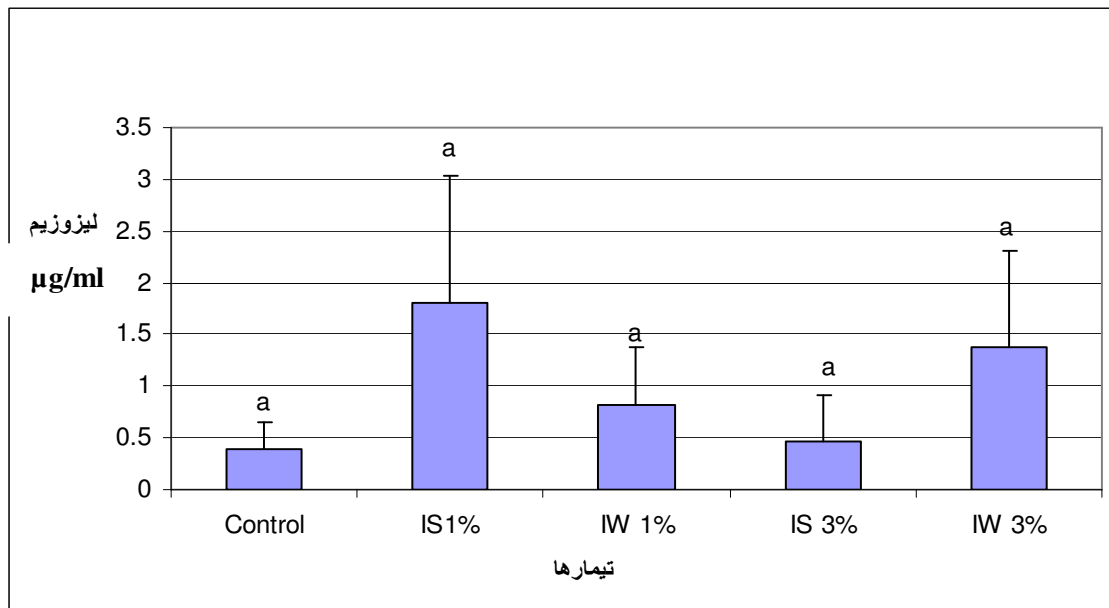


نمودار (۶۵-۴): مقایسه میزان IgM سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

مطابق نمودار (۶۵-۴) اختلاف معنی داری در میزان ایمونوگلوبولین M بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تیمارهای ایمنووال ۳٪ و ایمنوآستر ۱٪ افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.

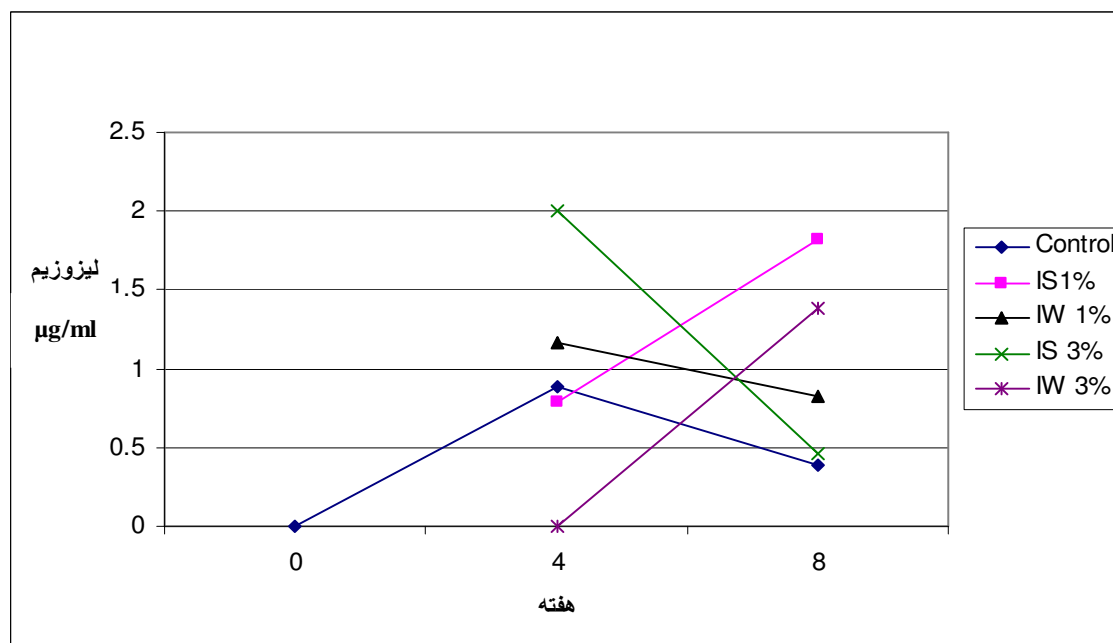


نمودار (۶۶-۴): مقایسه روند میزان IgM سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

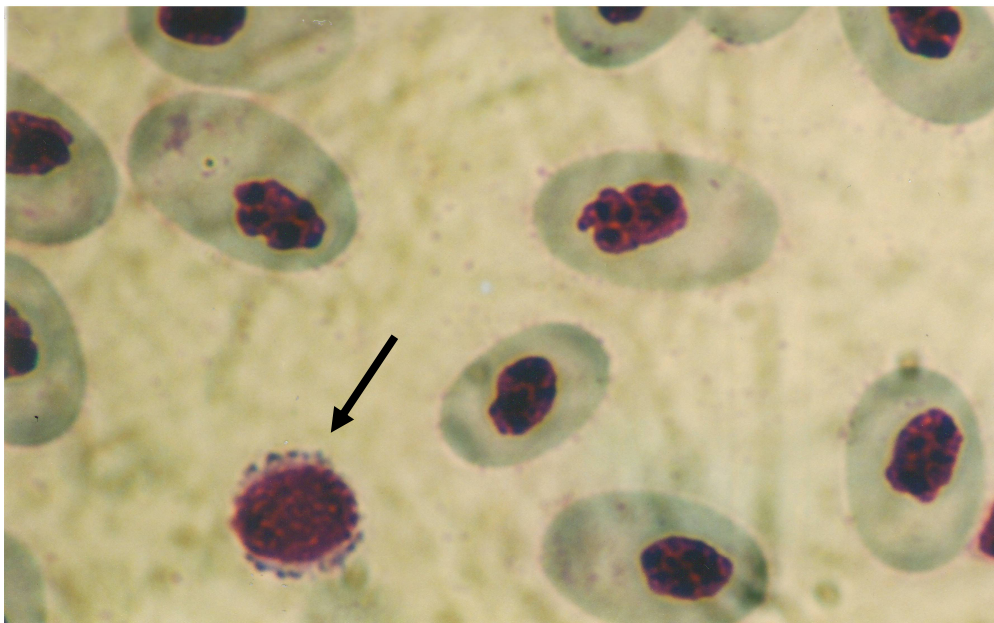


نمودار (۶۷-۴): مقایسه میزان لیزوزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی در پایان هفته هشتم. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)

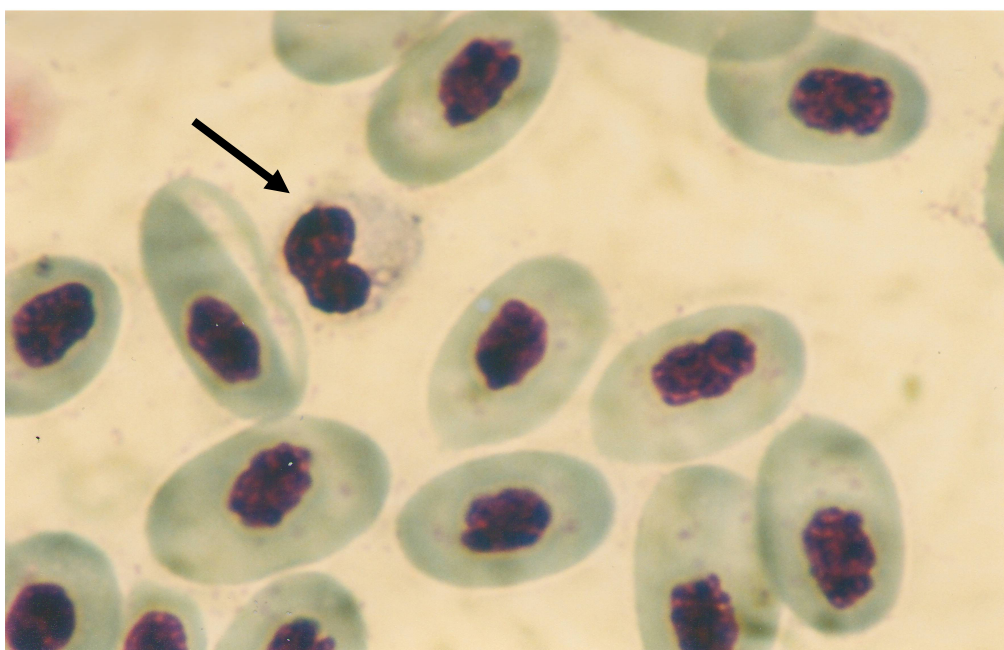
مطابق نمودار (۶۷-۴) اختلاف معنی داری در میزان لیزوزیم سرم خون بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما تمامی تیمارها افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند.



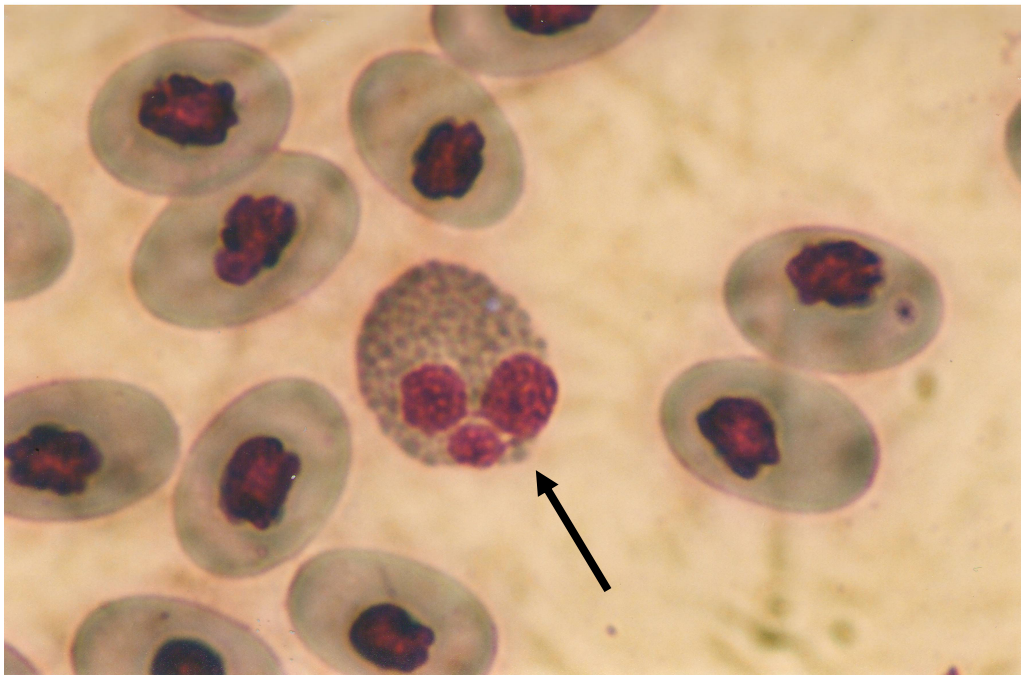
نمودار (۶۸-۴): مقایسه روند میزان لیزوزیم سرم خون بچه فیل ماهیان پرورشی طی نمونه برداری های اول، وسط و آخر دوره. (IS = ایمنوآستر و IW = ایمنووال)



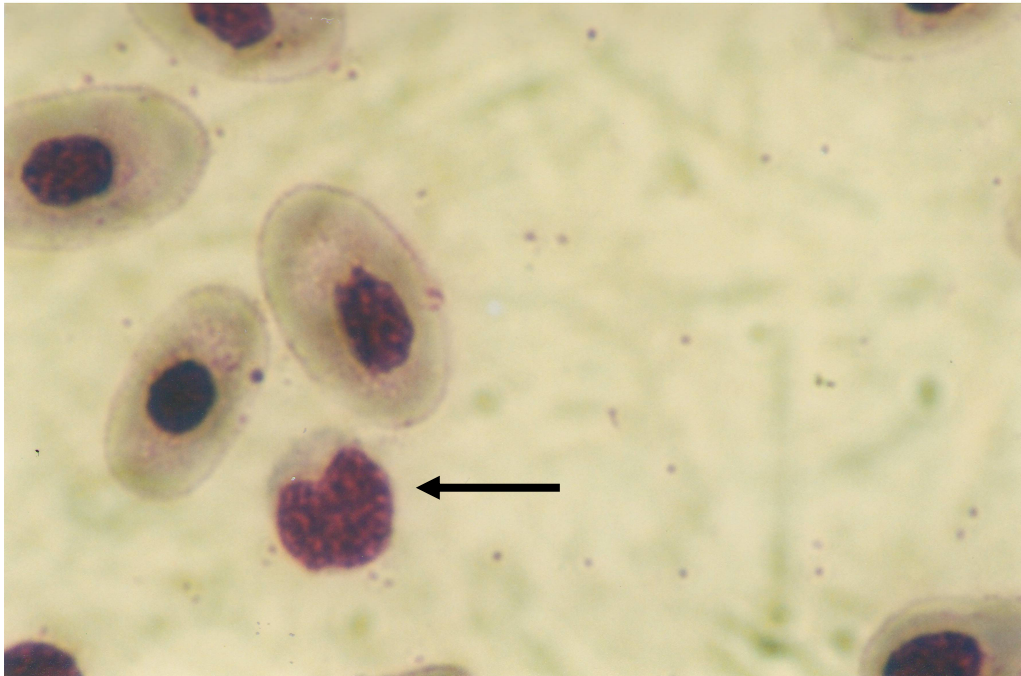
شکل (۱-۴): لنفوسیت (رنگ آمیزی گیمسا- بزرگنمایی $\times 100$)



شکل (۲-۴): نوتروفیل (رنگ آمیزی گیمسا- بزرگنمایی $\times 100$)



شکل (۳-۴): ائوزینوفیل (رنگ آمیزی گیمسا- بزرگنمایی $\times 100$)



شکل (۴-۴): مونوسیت (رنگ آمیزی گیمسا- بزرگنمایی $\times 100$)

فصل پنجم: بحث

(نتیجه گیری، جمع بندی و پیشنهادها)

۵-۱- پارامترهای رشد

امروزه، تقاضای جهانی برای دریافت غذاهای سالم به خصوص غذاهای دریایی تحقیقات و مطالعات را در مورد محرک های رشد طبیعی و یا جایگزین و استفاده از انواع محرک های ایمنی در غذای آبزیان ارتقاء داده است. رشد سریع و مقاومت بالا در برابر بیماری ها از مهمترین ملاحظات در آبی پروری به حساب می آیند (Genc et al., 2007).

در بسیاری از مزارع پرورشی شرایط محیطی نامطلوب نظیر تغییرات در pH، پایین بودن اکسیژن محلول، نوسانات دمایی، افت کیفیت آب جهت پرورش و یا مشکلات مدیریتی شامل تغذیه ناکافی، تغذیه بیش از حد و تراکم خارج از استاندارد استرس هایی را بر ماهیان پرورشی ایجاد نموده که سبب کاهش در رشد و تضعیف سیستم ایمنی شده و آنها را در برابر بیماری ها مستعد می سازد (Winton, 2001).

موفقیت های اقتصادی فرایند آبی پروری وابسته به درک عمیق از زیست شناسی و رفتار تغذیه ای گونه مورد پرورش و مدیریت شرایط زیست محیطی چرخه تولید است (Staykov et al., 2007). استفاده از جیره های غذایی مکمل شده با محرک های ایمنی از قبیل بتا گلوکان و مانان الیگوساکارید به عنوان ترکیبات اصلی سازنده مخمرها امروزه در آبی پروری توصیه می شود. چرا که آنها قادر به فائق آمدن بر اثرات منفی استرس های شایع در پرورش متراکم ماهیان از طریق تقویت سیستم ایمنی هستند (Welker et al., 2007).

اخیراً استفاده از پربیوتیک ها به عنوان یک راهکار در آبی پروری مطرح شده است. این ترکیبات جزیی از اجزای غذایی غیر قابل هضم هستند و عقیده بر این است که از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، اثرات زیان بار عوامل عفونت را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری زا را افزایش می دهند (RingØ et al., 2010).

در میان انواع مختلفی از پربیوتیک ها، بسیاری از مطالعات در ارتباط با آبزیان بر لزوم استفاده از ترکیب مانان الیگوساکارید (MOS) تاکید دارند. چرا که اولاً این ترکیب باعث افزایش بقا، بهبود عملکرد رشد و افزایش کارایی تغذیه شده است. ثانیاً اثرات مفید آن بر سلامت روده از طریق ارتقاء فرایندهای هضم و جذب مواد غذایی، افزایش در جمعیت باکتری های مفید روده و در نهایت تحریک سیستم ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی در برابر عوامل بیماریزا شایع در گونه های هدف به اثبات رسیده است (Sang and Fotedar, 2010).

نوروزی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که به کارگیری سطوح ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد Active MOS اضافه شده به جیره غذایی ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مدت ۸ هفته اختلاف معنی داری را در وزن نهایی، شاخص رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین نشان داده اند. تیمارهای فوق اثر معنی داری بر شاخص کبدی و ترکیب لاشه نداشتند.

کریم زاده و همکاران (۱۳۸۹) اظهار نظر کردند که القای سطوح ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد Active MOS به جیره غذایی بچه ماهیان سفید انگشت قد (*Rutilus frisii kutum*) با میانگین وزنی ۱ گرم در مدت ۸ هفته اختلاف معنی داری را در شاخص های افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین ایجاد نموده است. همچنین بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح مذکور نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری دارای درصد تلفات پایین تری بودند.

Staykov و همکاران (۲۰۰۷) اظهار کردند که افزودن ۰/۲ درصد مکمل MOS در جیره غذایی ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به وزن ۳۰ گرم در مدت ۴۲ روز (پرورش در قفس) و بچه ماهیانی به وزن ۱۰۱ گرم در مدت ۹۰ روز (پرورش در کانال های دراز) به طور معنی داری وزن نهایی را در هر دو تیمار افزایش داده و باعث کاهش چشمگیری در ضریب

تبدیل غذایی و تلفات در هر دو گروه آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد شده است. آنها همچنین همبستگی مثبتی بین سطح MOS و میزان جذب مواد غذایی پیدا نمودند.

افزایشی در وزن نهایی، ضریب کارایی تغذیه و درصد بقا در گربه ماهیان کانالی *Ictalurus punctatus* با میانگین وزنی ۴۷۶ گرم که به مدت ۶ هفته با جیره غذایی حاوی ۲ گرم در کیلوگرم Bio-MOS تغذیه شده بودند در قیاس با جمعیت شاهد ملاحظه شد (Welker et al., 2007). غنی سازی غذاهای زنده نظیر روتیفر و آرتمیا با ۰/۲ درصد MOS سبب افزایش مقاومت به استرس شوری در لاروهای ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*) گردید. طول و تراکم پرزهای مخملی روده (میکروویلی) در لاروها افزایش یافت. به نظر می رسد که MOS در ممانعت کردن از اتصال باکتری ها به روده و تنظیم میکروفلورای روده به منظور افزایش قابلیت هضم نقش اساسی ایفا می کند. همچنین MOS از طریق سلول های انتروسیست روده در افزایش تولید سد دفاعی موسین موثر است (Salze et al., 2008).

جیره های غذایی مکمل شده با ۱، ۲ و ۴ درصد MOS فاکتورهای وزن نهایی، شاخص رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی را طی مدت ۶۰ روز در بچه ماهیان انگشت قد ماهی رو هو (*Labeo rohita*) با میانگین وزنی ۴ گرم بهبود بخشیده اند. اثرات مثبت MOS استخراج شده از دیواره سلولی مخمر می تواند به علت به وجود آوردن شرایط مناسب برای فعالیت باکتری های اسید لاکتیک موجود در روده باشد چرا که MOS منبع انرژی این باکتری ها هستند (Andrews et al., 2009).

Torrecillas و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (میانگین وزنی ۶۰ گرم) تغذیه شده با سطوح ۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم MOS در جیره غذایی تفاوتی را در وزن بدن، ضریب چاقی و شاخص رشد ویژه نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته نشان نداد. ضریب تبدیل غذایی در سطوح ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم به طور معنی داری بهبود یافته بود. مطالعات آنها نشان داد که MOS سبب تولید گلوکز کبدی شده که انرژی لازم برای سوخت و ساز بافت های بدن را فراهم آورده و باعث ارتقاء رشد و بهتر شدن ضریب تبدیل غذایی می شود. همچنین اشاره گردید که اثر MOS بر کارایی تغذیه می تواند در ارتباط با سیستم سیری محیطی (سیری و پیام های اشتها) و یا در ارتباط با سیستم دراز مدت (ذخیره انرژی بدن) باشد که اطلاعاتی را برای سیستم مرکزی تغذیه ای هیپوتالاموس فراهم می کند.

همانطور که از نتایج تحقیق حاضر (که برای نخستین بار انجام گرفته است) بر می آید، افزودن سطوح ۱٪ و ۳٪ پریبیوتیک های ایمنواستر و ایمنوال که حاوی MOS می باشند، سبب شده است که ماهیان تغذیه کرده از این پریبیوتیک ها رشد بهتری را نسبت به گروه شاهد در مدت ۸ هفته نشان دهند. بطوریکه وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه، میانگین رشد روزانه، ضریب کارایی پروتئین و ضریب چاقی به طور معنی داری در ماهیان تغذیه شده با ایمنواستر ۳٪ و ایمنوال در هر دو سطح ۱٪ و ۳٪ در مقایسه با گروه شاهد افزایش پیدا کنند.

نتایج تحقیق حاضر بسیار مشابه با نتایج تحقیقات ذکر شده در بالا می باشد. مانان الیگوساکاریدها منبع تغذیه ای مناسب برای رشد و فعالیت باکتری های فلور دستگاه گوارش نظیر باکتری های اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکترها می باشند (RingØ et al., 1998). مانان الیگوساکاریدها به عنوان منبع انرژی توسط باکتری های اسید لاکتیک مصرف می شوند (Miles, 1993). به نظر می رسد تاثیر پریبیوتیک ها بر عملکرد رشد ماهیان به دلیل جلوگیری ترکیب مانان الیگوساکارید از تجمع باکتری های بیماری زا در روده به خاطر تولید ترکیبات ضد باکتریایی (باکتریوسین) می باشد. چسبیدن باکتری ها به روده امر مهمی در تشکیل کلونی و بیماری زایی می باشد. سلول های موکوسی اپیتلیال روده در برابر اتصال باکتری ها دارای مکانیسم های دفاعی شامل ترشح موکوس، در برگرفتن باکتری ها و فعالیت موسین هستند. موسین ها اجزای مهم ضد چسبندگی بوده که سیستم دفاعی اولیه را جهت جلوگیری از اتصال باکتری ها تحریک می کنند (Bavington et al., 2004; Sandberg et

(al., 2000). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و باکتری های اسید لاکتیک ناشی از تخمیر پریبیوتیک ها منجر به کاهش pH روده شده که شرایط مناسبی برای فعالیت باکتری های اسید لاکتیک فراهم می کند (Schley and Field, 2002).

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان ضریب تبدیل غذا است چرا که علاوه بر کاهش هزینه های غذا و غذا دهی به سبب مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد (فلاحکار و همکاران، ۱۳۸۵). در تحقیق حاضر بهترین ضریب تبدیل در جیره های حاوی ایمنواستر و ایمنوال ۱٪ و ۳٪ مشاهده شد که اختلاف معنی داری با گروه شاهد داشتند که نشان از کارایی و قابلیت هضم بهتر این ترکیبات می باشد. Staykov و همکاران (۲۰۰۷) اعلام نمودند که پایین بودن میزان ضریب تبدیل غذا در قزل آلاي رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با MOS به دلیل جذب عالی غذا بوده است.

میزان پروتئین لاشه در بچه فیل ماهیان تغذیه شده با ایمنواستر و ایمنوال در هر دو سطح ۱ و ۳ درصد در انتهای دوره افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. این خود نشان دهنده راندمان مناسب تغذیه و همچنین بالا بودن بازده پروتئین، ابقاء پروتئین و جذب اسیدهای آمینه است. اگرچه اثرات پریبیوتیک ها بر اسیدهای آمینه نیاز به مطالعات بیشتری دارد (Genc et al., 2007).

در قیاس با نتایج فوق الذکر، Pryor و همکاران (۲۰۰۳) هیچ تفاوتی را در وزن نهایی، طول چنگالی، ضریب چاقی، شاخص رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بین گروه شاهد و گروه تغذیه شده با ۰/۳ درصد MOS در تاس ماهی خلیج مکزیکی (*Acipenser oxyrinchus*) با میانگین وزنی ۱۳۰ گرم طی مدت ۵ هفته مشاهده نکردند.

Grisdale-Helland و همکاران (۲۰۰۸) ثابت کردند که افزودن ۱ درصد MOS به جیره غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) با میانگین وزنی ۲۰۰ گرم طی مدت ۱۶ هفته تاثیر معنی داری بر قابلیت هضم، میزان جذب غذا و رشد این ماهی نداشته، همچنین سبب کاهش میزان غلظت پروتئین لاشه شده است.

وزن نهایی، شاخص رشد ویژه، کارایی تغذیه در تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) با میانگین وزنی ۱۳ گرم تغذیه شده با سطوح ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد MOS به مدت ۴۵ روز، کاهشی را نسبت به جمعیت شاهد نشان دادند. به نظر می رسد که کربوهیدرات های غیر قابل هضم جمع شده در غشای سیتوپلاسمی سلول های انتروسیست روده باعث ایجاد اثرات مخرب بر ساختار میکروویلی شده اند (Sado et al., 2008).

Akrami و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پریبیوتیک اینولین را به مدت ۸ هفته بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و فلور روده فیل ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) با میانگین وزنی ۱۶ گرم مورد بررسی قرار دادند. آنها اعلام نمودند که کاهش کاملاً معنی داری در وزن نهایی، شاخص رشد ویژه، کارایی تغذیه، ضریب کارایی پروتئین، نرخ بقا و میزان پروتئین لاشه در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد وجود داشت. بهترین ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد رویت گردید. تعداد باکتری های لاکتوباسیلوس روده در تیمار ۱ درصد اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت. در نهایت اشاره شد که اینولین قابلیت تاثیرگذاری بالایی بر عملکرد رشد و کارایی تغذیه در فیل ماهیان پرورشی نداشته و نمی تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد. زیرا سطوح بالای اینولین سبب انباشت کربوهیدرات در روده شده که تاثیرات نامطلوب و زیان باری بر سلول های انتروسیست روده گذاشته و باعث کاهش رشد شده است.

Dimitroglou و همکاران (۲۰۱۰) اثرات سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد MOS را به مدت ۹ هفته بر ماهی سیم دریایی سر طلایی (*Sparus aurata*) با میانگین وزنی ۲۴ گرم مورد بررسی قرار دادند. مشخص گردید که سطوح مذکور اختلاف معنی داری را نسبت به گروه شاهد در وزن نهایی، شاخص رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و میزان پروتئین لاشه نشان ندادند. حتی

ضریب چاقی و شاخص کبدی به طور معنی داری پایین تر از گروه شاهد بودند. از طرف دیگر، مطالعات با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که MOS توانست تراکم میکروویلی ها را در هر دو بخش جلویی و عقبی روده افزایش دهد. افزایش تراکم میکروویلی ها ضریب جذب غذا را ارتقاء می دهد. علت افزایش تراکم، تخمیر کربوهیدرات در روده اعلام گردید. پیچیدگی ساختار کربوهیدرات در دیواره سلولی مخمر، نژادهای گوناگون مخمر، فرایند تخمیر و فرآوری همگی می توانند بر عملکرد کربوهیدرات ها اثر بگذارند (Newman, 2007). استفاده از ترکیبات MOS به عنوان پریبیوتیک به منظور ارتقای شاخص های رشد ماهیان نیاز به مطالعات بیشتری بر روی گونه های مختلف ماهیان دارد تا بتوان نتایج ضد و نقیض دانشمندان را تفسیر نمود. با این وجود، اختلاف موجود در نتایج تحقیقات دانشمندان مختلف را می توان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن گونه، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه ای، خصوصیات فیزیولوژیک گونه، نوع مواد اولیه به کار رفته در تهیه جیره های غذایی و کمیت و کیفیت آنها، فرمولاسیون جیره های غذایی، نوع پریبیوتیک مصرفی و میزان سطح مورد استفاده ربط داد.

۵-۲- شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی

ترکیب بتا ۱، ۳ گلوکان از دیواره سلولی مخمر آجیو (*Saccharomyces cerevisiae*) مشتق شده و مقاومت موجود را نسبت به عفونت های باکتریایی و ویروسی افزایش می دهد. بتاگلوکان قادر است فعالیت بیگانه خوارها و سایر بخش های مختلف سیستم ایمنی ذاتی یا غیر اختصاصی را هم در ماهیان و هم در پستانداران تنظیم نماید (Robertsen et al., 1994).

بتا ۱، ۳ گلوکان باعث افزایش فعالیت پروتئین های ضد میکروبی نظیر لیزوزیم و کمپلمان، تحریک سلول های بیگانه خوار نظیر ماکروفاژها و تولید آنتی بادی می شود که باعث افزایش سطح ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی بدن، افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری زا و کاهش مرگ و میر در ماهیان می شود (Sakai, 1999; Ortuno et al., 2002; Dalmo and Bogwald, 2008). Jeney و Jeney (۲۰۰۲) اثرات سطوح ۰/۱ و ۰/۵ درصد بتاگلوکان در جیره غذایی را بر مکانیسم های دفاع غیر اختصاصی هیبرید (*Acipenser ruthenus* × *A. baeri*) با میانگین وزنی ۱۲ گرم بررسی کردند. نتایج نشان داد که سطوح مذکور بتاگلوکان در مدت ۸ هفته تغذیه سبب افزایش فعالیت گلبول های سفید، افزایش فعالیت بیگانه خوار و انفجار تنفسی شده است.

Cuesta و همکاران (۲۰۰۴) سطوح ۱، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم مخمر آجیو را در جیره غذایی ماهی سیم دریایی (*S. aurata*) به وزن ۱۰۰ تا ۲۰۰ گرم به مدت ۴ هفته آزمایش کردند. سطوح IgM سرم خون به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. البته بالاترین غلظت IgM در سطح ۵ گرم در کیلوگرم مشاهده شد. آنها اعلام نمودند که این مخمر به دلیل دارا بودن ترکیبات بتاگلوکان نقش مهمی در ارتقای سیستم ایمنی اختصاصی یا هومورال دارد. همچنین دز مناسب محرک های ایمنی و مدت زمان اثر آنها بسیار تعیین کننده می باشد.

Bagni و همکاران (۲۰۰۵) اثرات کوتاه مدت (۱۵ روزه) و طولانی مدت (۶۰ روزه) سطح ۰/۱ درصد ماکروگارد (ترکیب حاوی بتاگلوکان) را بر واکنش های ایمنی ماهی باس دریایی (*D. labrax*) با میانگین وزنی ۸۰ گرم مورد سنجش قرار دادند. در این بررسی اختلافات معنی داری بین گروه شاهد و گروه های آزمایشی در میزان لیزوزیم مشاهده گردید. به نظر می رسد که بتاگلوکان قادر به تحریک فرایندهای فعال سازی گلبول های سفید خصوصاً "لنفوسیت ها باشد".

Misra و همکاران (۲۰۰۶) اثرات سطوح ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بتا گلوکان در جیره غذایی را به مدت ۸ هفته بر فاکتورهای ایمنی و رشد بچه ماهیان انگشت قد رو (*L. rohita*) با میانگین وزنی ۳۵ گرم مطالعه نمودند. شاخص رشد ویژه در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشت. مکانیسم این عمل مشخص نیست اما احتمالاً بتاگلوکان در دستگاه

گزارش تجزیه شده و تولید انرژی کرده است. افزایش معنی داری در تعداد گلبول های سفید، غلظت لیزوزیم و غلظت پروتئین سرم خون در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم رویت گردید. چگونگی افزایش میزان لیزوزیم به افزایش تعداد گلبول های سفید و افزایش فعالیت بیگانه خواری آنها ارتباط داده شد. Ai و همکاران (۲۰۰۷) اثرات دز کم (۰/۰۹) و دز زیاد (۰/۱۸) درصد بتاگلوکان در جیره غذایی را به مدت ۸ هفته بر واکنش ایمنی غیر اختصاصی ماهی شوریده زرد بزرگ (*Pseudosciaena crocea*) با میانگین وزنی ۹ گرم و نیز ایجاد مقاومت در برابر باکتری *Vibrio harveyi* مطالعه نمودند. نتایج بررسی ها نشان داد که با افزایش دز میزان فعالیت لیزوزیم، میزان بیگانه خواری و انفجار تنفسی نیز افزایش یافته است. میزان تلفات در دز کم در رویارویی با باکتری *V. harveyi* اختلاف معنی داری با سایرین داشت که علت آن تقویت مکانیسم های ایمنی غیر اختصاصی توسط بتاگلوکان گزارش شد.

Torrecillas و همکاران (۲۰۰۷ و ۲۰۱۰) با افزودن سطوح ۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم MOS در جیره غذایی ماهی باس دریایی (*D. labrax*) با میانگین وزنی ۶۰ گرم طی مدت ۸ هفته گزارش کردند که فعالیت بیگانه خواری در گروه های تغذیه شده با MOS افزایشی نسبت به گروه شاهد داشت. این افزایش می تواند به دلیل حضور گیرنده های مانوز در گلبول های سفید قسمت قدامی کلیه باشد که در تشخیص آنتی ژن و فرایند بیگانه خواری دخالت دارند. گیرنده های مانوز این توانایی را دارند که آنتی ژن ها را شناسایی و آنها را غیر فعال سازند. MOS می تواند سیستم ایمنی باس دریایی را از طریق تحریک اتصال مانوز به لکتین توسط ترشحات کبدی ارتقاء دهد. همچنین ارتباط مستقیمی بین افزایش سطوح MOS با افزایش غلظت لیزوزیم گزارش شد که این افزایش معنی دار نبود.

در تحقیق حاضر که برای نخستین بار از محرک های ایمنی ایمنواستر و ایمنوال (حاوی بتا ۱، ۳ گلوکان) استفاده شد، افزایشی در فاکتورهای ایمنی نظیر IgM (تیمارهای ایمنواستر ۱٪ و ایمنوال ۳٪) و لیزوزیم سرم خون (تمامی تیمارها در قیاس با شاهد) مشاهده گردید. البته این افزایش معنی دار نبود. فرایند ایمنی شدن در ماهیان خاویاری در برابر عوامل بیماریزا به اندازه کپور ماهیان و آزاد ماهیان رشد و توسعه نیافته است (Khosbavar- Rostami et al., 2007).

در ماهیان سیستم ایمنی ذاتی یا غیر اختصاصی یک مکانیسم دفاعی اساسی در برابر عوامل بیماریزا محسوب می شود. تقویت این سیستم برای ماهیان پرورشی بسیار ارزشمند است چرا که ماهیان در شرایط پرورشی در برابر بسیاری از عوامل باکتریایی فرصت طلب آسیب پذیرند (Dixon and Stetson, 2001).

اتصال بتا گلوکان به گیرنده های سلولی فرایند بیگانه خواری را از طریق فعال سازی مسیرهای کمپلمان تقویت می کند. مطالعات نشان داده است که تغذیه کوتاه مدت با محرک های ایمنی سبب تولید اثرات مفید بر سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در برابر بیماری ها می گردد (Chen and Ainsworth, 1992).

گزارش های متعددی نشان داده اند که گیرنده های گلوکان در ماهیان روی ماکروفاژها قرار داشته (Engstad and Robertsen, 1993) و قادرند از طریق فعال سازی مستقیم ماکروفاژها باعث ارتقاء ایمنی غیر اختصاصی شوند (Robertsen, 1999).

گیرنده مانوز یک گیرنده داخل سلولی ماکروفاژها و سلول های اندوتلیال بوده که لیگاند های حاوی مانوز با سایر گیرنده ها متصل شده و سبب فعال شدن گلبول های سفید و تولید سیتوکین های ضد التهابی می شوند (Linehan et al., 2000).

Staykov و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که ماهیان قزل آلا رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با دز ۰/۲ درصد MOS در هر دو محیط پرورشی قفس و کانال های دراز اختلاف معنی داری را نسبت به گروه شاهد در غلظت لیزوزیم نشان دادند.

در قیاس با نتایج مذکور، غلظت لیزوزیم در گربه ماهیان کانالی (*I. punctatus*) با میانگین وزنی ۴۷۶ گرم که به مدت ۶ هفته با جیره های غذایی حاوی ۱ گرم در کیلوگرم ماکروگارد (ترکیب حاوی بتاگلوکان) و ۲ گرم در کیلوگرم Bio-MOS تغذیه شده بودند، کاهشی را نسبت به ماهیان گروه شاهد نشان داد (Welker et al., 2007).

غلظت لیزوزیم در آزاد ماهیان اقیانوس اطلس (*S. salar*) تغذیه شده با سطح ۱ درصد MOS پایین تر از گروه شاهد بود (Grisdale-Helland et al., 2008).

شناخت فاکتورهای خونی نه تنها در تشخیص گونه مهم است بلکه از نظر اقتصادی نیز می تواند در شناسایی بیماری ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (Bahmani et al., 2001).

نوروزی و همکاران (۱۳۸۹) اعلام کردند که به کارگیری سطوح ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد Active MOS اضافه شده به جیره غذایی ماهی قزل آلا رنگین کمان (*O. mykiss*) تفاوت معنی داری را در غلظت هورمون کورتیزول بین بچه ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد و جیره های حاوی پریبیوتیک پس از استرس ناشی از پایین آمدن سطح آب حوضچه ها ایجاد نکرد.

در تحقیق حاضر، تعداد گلبول های سفید در گروه های آزمایشی تغذیه شده با محرک های ایمنی ایمنوستر و ایمنووال (به استثنای ایمنووال ۳٪) افزایش غیر معنی داری نسبت به گروه شاهد داشتند. گلبول های سفید یکی از مهمترین سلول هایی هستند که می توانند واکنش های ایمنی غیر اختصاصی را در ماهیان تحریک کنند (سلطانی، ۱۳۸۷).

طبق نظر Raa (۱۹۹۶)، افزایش در تعداد گلبول های سفید ناشی از ترکیبات بتاگلوکان بوده چرا که آنها گیرنده های خاصی را روی گلبول های سفید شناسایی می کنند. وقتی بتا گلوکان روی این گیرنده ها قرار گیرد، سلول ها شروع به بلعیدن باکتری ها نموده و باعث ترشح سیتوکین می شوند که این سیتوکین ها باعث تحریک بیشتر گلبول های سفید جدید می شوند.

تعداد گلبول های سفید در گربه ماهیان کانالی (*I. punctatus*) تغذیه شده با ۲ گرم در کیلوگرم MOS افزایشی را نسبت به گروه شاهد نشان داد که این افزایش معنی دار نبود (Welker et al., 2007).

Andrews و همکاران (۲۰۰۹) اعلام نمودند که ماهیان رو هو (*L. rohita*) تغذیه شده با سطوح ۱، ۲ و ۴ درصد MOS به طور معنی داری تعداد گلبول های سفید بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند. مشخص گردید که حضور گیرنده های مانوز و فعالیت آنها در جهت شناسایی آنتی ژن های میکروب ها در انجام فرایند بیگانه خواری تاثیر گذار بوده است. گیرنده های مانوز اصلی ترین مولکول در گیر در شناسایی آنتی ژن ها بوده و فرایند اتصال و غیر فعال کردن آنها را بر عهده دارند.

در مطالعه حاضر، میزان پروتئین کل و آلبومین در فیل ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱٪ و ۳٪ ایمنوستر و ایمنووال بالاتر از گروه شاهد بود. طبق گزارش های Wiegertjes و همکاران (۱۹۹۶) و Andrews و همکاران (۲۰۰۹) افزایش در میزان غلظت پروتئین کل و آلبومین می تواند به دلیل واکنش های ایمنی غیر اختصاصی قویتر ناشی از ترکیبات MOS و بتا گلوکان باشد.

در این تحقیق، افزایشی در میزان هماتوکریت، هموگلوبین (به استثنای ایمنوستر ۱٪)، تعداد گلبول های سفید (به استثنای ایمنووال ۳٪)، MCH و نوتروفیل در گروه های تغذیه شده با محرک های ایمنی ایمنوستر و ایمنووال در سطوح ۱٪ و ۳٪ در قیاس با گروه شاهد مشاهده گردید ولی این افزایش معنی دار نبود. البته در میزان MCV اختلاف معنی داری بین تیمارهای ایمنووال ۱٪ و ایمنوستر ۳٪ با گروه شاهد مشاهده شد.

Andrews و همکاران (۲۰۰۹) اختلاف معنی داری را در تعداد گلبول های قرمز، میزان هموگلوبین، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در ماهیان رو هو (*L. rohita*) تغذیه کرده از سطوح ۱، ۲ و ۴ درصد MOS گزارش نمودند.

Samrongpan و همکاران (۲۰۰۹) MOS را در سطوح ۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم غذا به مدت ۳۰ روز به جیره غذایی تیلاپای نیل (*O. niloticus*) با میانگین وزنی ۸۰ گرم افزودند. تعداد گلبول

های قرمز و سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در بچه ماهیان تغذیه کرده از MOS در مقایسه با گروه شاهد افزایشی را نشان دادند که این افزایش معنی دار نبود.

افزایشی در میزان هماتوکریت و هموگلوبین در گربه ماهی کانالی (*I. punctatus*) تغذیه شده با سطح ۱ گرم در کیلوگرم ماکروگارد (حاوی بتاگلوکان) در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت. اما در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ گرم در کیلوگرم MOS کاهشی در تعداد گلبول های قرمز، میزان هماتوکریت و هموگلوبین نسبت به شاهد گزارش شد (Welker et al., 2007).

Sado و همکاران (۲۰۰۸) اظهار نمودند که رژیم های غذایی حاوی ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد MOS اثر معنی داری بر هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبولهای قرمز، MCH، MCV، MCHC و پروتئین کل در ماهی نیلاپای نیل (*O. niloticus*) نداشتند.

Akrami و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پرپیوتیک اینولین را بر شاخص های خونی فیل ماهیان پرورشی (*H. huso*) آزمایش کردند. مشخص گردید که گروه شاهد در تعداد گلبول های قرمز و سفید، میزان هماتوکریت و هموگلوبین، MCH، MCV، MCHC، پروتئین کل و آنزیم های کبدی وضعیت بهتری نسبت به گروه های تغذیه کرده از اینولین داشت.

شایان ذکر است که اطلاعات در مورد اثر پرپیوتیک ها، MOS و بتاگلوکان بر فاکتورهای خونی ماهیان محدود می باشد. در تحقیق حاضر اثرات ایمنواستر و ایمنوال بر برخی از فاکتورهای خونی نظیر اسمولاریته، یون های سدیم، پتاسیم و منیزیم فاقد اختلاف معنی دار بودند. در تحقیق حاضر از هیچ تست استرس فیزیکی، شیمیایی و باکتریایی استفاده نگردید. از طرف دیگر، چون فیل ماهیان دارای مراحل طولانی رشد و سن بالای رسیدگی جنسی می باشند، پس اثرات این پرپیوتیک ها بر شاخص های خونی و ایمنی نیاز به زمان بیشتری دارد. البته به نظر می رسد نوسانات و تفاوت ها در فاکتورهای خونی در تحقیقات گوناگون دانشمندان به خصوصیات گونه ای ماهی مورد مطالعه، میزان دز القاء شده MOS و بتا گلوکان، ترکیبات جیره های غذایی، دوره پرورش و... وابسته باشند. طبق نظر Sado و همکاران (۲۰۰۸) با توجه به خونسرد بودن ماهیان اثرات فاکتورهای محیطی می تواند قابل توجه باشد.

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده از فاکتورهای رشد و ترکیب لاشه بچه فیل ماهیان پرورشی، سطح ۳٪ ایمنواستر و ایمنوال دز مناسب و مطلوبی برای پرورش بچه فیل ماهیان به شمار می روند چرا که باعث افزایش معنی داری در وزن نهایی، طول نهایی، شاخص رشد ویژه، میانگین رشد روزانه، ضریب کارایی پروتئین، ضریب چاقی، میزان پروتئین لاشه و کاهش معنی دار ضریب تبدیل غذایی در بچه فیل ماهیان پرورشی شده اند ($P < 0/05$). با توجه به متفاوت بودن سطوح MOS در این دو ترکیب به نظر می رسد که ایمنوال به دلیل داشتن MOS بیشتر توانسته است تاثیر مثبت تری بر شاخص های رشد و خونی داشته باشد. اگرچه در تبیین آثار دراز مدت عوامل فوق ضرورت دارد که اثرات آنها را تا زمان حصول رسیدگی جنسی ردیابی نمود. در خصوص فاکتورهای خونی و ایمنی به نظر می رسد که بچه فیل ماهیان پرورشی باید به مدت بسیار طولانی تر در معرض این ترکیبات قرار گیرند تا با توجه به طولانی بودن مراحل رشد آنها بتوان در خصوص انتخاب دز مصرفی اظهار نظر قطعی نمود.

جدول ۵-۱: مقایسه نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات انجام شده با ترکیبات مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان در ایران و جهان

گونه ماهی	وزن و دوره پرورش	دز مصرفی MOS و بتاگلوکان	اثرات	منبع
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	اشاره نشد- ۸ هفته	۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد Active MOS	فاکتورهای رشد ↑ ↓ FCR ← HSI پروتئین لاشه ← کورتیزول ←	نوروزی و همکاران (۱۳۸۹)
<i>Rutilus frisii kutum</i>	۱ گرم- ۸ هفته	۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد Active MOS	فاکتورهای رشد ↑ ↓ FCR افزایش درصد بقا ↑	کریم زاده و همکاران (۱۳۸۹)
<i>Acipenser oxyrinchus</i>	۱۳۰ گرم- ۵ هفته	۰/۳ درصد MOS	فاکتورهای رشد ← ← FCR	Pryor و همکاران (۲۰۰۳)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	۳۰ گرم - ۴۲ روز ۱۰۱ گرم - ۹۰ روز	۰/۲ درصد MOS	↓ FCR میزان تلفات ↓ کارایی تغذیه ↑ لیزوزیم ↑	Staykov و همکاران (۲۰۰۷)
<i>Ictalurus punctatus</i>	۴۷۶ گرم - ۶ هفته	۲ گرم در کیلوگرم Bio-MOS	فاکتورهای رشد ↑ لیزوزیم ↓ WBC ↑ فاکتورهای خونی ↓	Welker و همکاران (۲۰۰۷)
<i>Rachycentron canadum</i>	۰/۱۱ گرم - ۲۸ روز	۰/۲ درصد MOS	مقاومت به استرس شوری ↑	Salze و همکاران (۲۰۰۸)

گونه ماهی	وزن و دوره پرورش	دز مصرفی MOS و بتاگلوکان	اثرات	منبع
<i>Salmo salar</i>	۲۰۰ گرم – ۱۶ هفته	۱ درصد MOS	فاکتورهای رشد ← پروتئین لاشه ↓ لیزوزیم ↓	Grisdale-Helland و همکاران (۲۰۰۸)
<i>Oreochromis niloticus</i>	۱۳ گرم – ۴۵ روز	۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد MOS	فاکتورهای رشد ↓ فاکتورهای خونی ←	Sado و همکاران (۲۰۰۸)
<i>Labeo rohita</i>	۴ گرم – ۶۰ روز	۱، ۲ و ۴ درصد MOS	فاکتورهای رشد ↑ FCR ↓ فاکتورهای خونی ↑	Andrews و همکاران (۲۰۰۹)
<i>Oreochromis niloticus</i>	۸۰ گرم – ۳۰ روز	۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم MOS	فاکتورهای خونی ↑	Samrongpan و همکاران (۲۰۰۹)
<i>Huso huso</i>	۱۶ گرم - ۸ هفته	۱، ۲ و ۳ درصد اینولین	فاکتورهای رشد ↓ پروتئین لاشه ↓ فاکتورهای خونی ↓ آنزیم های کبدی ↓	Akrami و همکاران (۲۰۰۹)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	۶۰ گرم - ۸ هفته	۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم MOS	فاکتورهای رشد ← FCR ↓	Torrecillas و همکاران (۲۰۱۰)
<i>Sparus aurata</i>	۲۴ گرم – ۹ هفته	۰/۲ و ۰/۴ درصد MOS	فاکتورهای رشد ← طول و تراکم میکروویلی ↑	Dimitroglou و همکاران (۲۰۱۰)

گونه ماهی	وزن و دوره پرورش	دز مصرفی MOS و بتاگلوکان	اثرات	منبع
<i>Acipenser ruthenus</i> × <i>A. baeri</i>	۱۲ گرم – ۸ هفته	۰/۱ و ۰/۵ درصد بتاگلوکان	↑ WBC ↑ فعالیت بیگانه خواری ↑ انفجار تنفسی	Jeney و Jeney (۲۰۰۲)
<i>Sparus aurata</i>	۱۰۰ تا ۲۰۰ گرم – ۴ هفته	۱، ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم مخمر آجو	↑ IgM	Cuesta و همکاران (۲۰۰۴)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	۸۰ گرم – ۶۰ روز	۰/۱ درصد ماکروگارد (ترکیب حاوی بتاگلوکان)	↑ لیزوزیم	Bagni و همکاران (۲۰۰۵)
<i>Labeo rohita</i>	۳۵ گرم – ۸ هفته	۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بتا گلوکان	↑ فاکتورهای رشد ↑ WBC ↑ لیزوزیم و پروتئین سرم	Misra و همکاران (۲۰۰۶)
<i>Pseudosciaena crocea</i>	۹ گرم – ۸ هفته	۰/۰۹ و ۰/۱۸ درصد بتاگلوکان	↑ لیزوزیم ↑ فعالیت بیگانه خواری	Ai و همکاران (۲۰۰۷)
<i>Huso huso</i>	۹۵ گرم – ۸ هفته	۱ و ۳ درصد ایمنواستر و ایمنووال (حاوی MOS و بتاگلوکان)	↑ فاکتورهای رشد ↓ FCR ↑ پروتئین لاشه ↑ WBC ↑ برخی از فاکتورهای خونی ↑ پروتئین و آلبومین سرم ↑ لیزوزیم و IgM	تحقیق حاضر (طاعتی و همکاران)

پیشنهاده‌ها

- ۱- بررسی اثرات ایمنواستر و ایمنوال بر فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی در طول دوره پرورش تا زمان مولدسازی انجام گیرد.
- ۲- بهبود وضعیت مدیریتی و کنترل شرایط کیفی آب محیط پرورش جهت بهینه نمودن تاثیر این ترکیبات در ارتقاء روند رشد و تغذیه بچه فیل ماهیان در طول دوره پرورش انجام گیرد.
- ۳- امکان استفاده از ایمنواستر و ایمنوال در کارخانجات تولید غذای ماهی و میگو مجهز به دستگاه های پلت و اکسترودر به منظور استفاده در مزارع پرورش ماهی و میگو فراهم گردد.
- ۴- تاثیرات ایمنواستر و ایمنوال بر شاخص های رشد و فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی سایر گونه های پرورشی ماهیان خاویاری نظیر تاس ماهی ایرانی، ازون برون و مد نظر قرار گیرند.
- ۵- اثرات ایمنواستر و ایمنوال بر سایر گونه های پرورشی رایج نظیر کپور ماهیان، قزل آلا، رنگین کمان و نیز میگوهای پرورشی مورد بررسی قرار گیرند.
- ۶- آزمایش های فلور باکتریایی جهت تعیین تعداد و نوع باکتری های موجود در دستگاه گوارش فیل ماهی انجام شوند.
- ۷- استفاده از ایمنواستر و ایمنوال در غنی سازی غذاهای زنده از جمله ناپلیوس آرتمیا و دافنی به منظور تغذیه لاروهای انواع ماهیان خاویاری جهت افزایش رشد و درصد بقا لحاظ شود.
- ۸- ارزیابی اقتصادی استفاده از ایمنواستر و ایمنوال با سایر ترکیبات مکمل مشابه انجام گیرد.

منابع

۱- آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران. ۴۰۱ صفحه.

۲- ابراهیمی، ع.؛ پوررضا، ج.؛ پاناماریوف، س.و.؛ کمالی، الف. و حسینی، ع.، ۱۳۸۳. اثر مقادیر مختلف پروتئین و چربی بر شاخص های رشد و ترکیب لاشه بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان. سال هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۳. صفحات ۲۲۹ تا ۲۴۱.

۳- اخلاقی، م. و انبارکی مطلق، و.، ۱۳۸۳. تغییرات فاگوسیتوز در ماهی کپور معمولی بدنبال استفاده از محرک های ایمنی کوپیل آ و لوامیزول. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، پاییز ۸۳. صفحات ۱ تا ۱۲.

۴- اکرمی، ر.؛ قلیچی، الف. و ابراهیمی، ع.ر.، ۱۳۸۷. تاثیر سطوح متفاوت پریبیوتیک اینولین بر رشد و زنده ماندن قزل آلاهای رنگین کمان. اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

۵- اوجی فرد، الف.؛ عابدیان، ع.م.؛ نفیسی بهابادی، م. و عباس زاده، الف.، ۱۳۸۷. تاثیر پریبیوتیک اینولین بر ترکیب اسیدهای چرب عضله میگوی وانامی. اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

۶- بهمنی، م.، ۱۳۷۷. بررسی فیلوژنیک و سیستماتیک تاس ماهیان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲، تابستان ۷۷. صفحات ۹ تا ۳۰.

۷- بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژی استرس از طریق اثر بر محورهای HPG و HPI سیستم ایمنی و فرایند تولید مثل در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۲۷۷ صفحه.

۸- بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ امینی، ک.؛ محسنی، م.؛ دونسکایا، پ.و. و پیسکونووا، ل.ن.، ۱۳۸۳. گزارش نهایی پروژه ارزیابی کیفی تاس ماهیان چندین ساله در شرایط پرورش مصنوعی. پروژه مشترک با انستیتو KaspNIRKH روسیه. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۷ صفحه.

۹- بهمنی، م.، ۱۳۸۴ الف. خاویار ایران. انتشارات موج سبز- نشر آموزش کشاورزی. ۱۰۳ صفحه.

۱۰- بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ وهابی، ی.؛ حلاجیان، ع.؛ ملک زاده، م.ر.؛ محسنی، م. و مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۴ ب. گزارش نهایی پروژه مطالعه فیزیولوژیک جهت بررسی نارسایی ها در القای تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۰۶ صفحه.

۱۱- بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ حلاجیان، ع.؛ محسنی، م.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی، الف. و دژندیان، س.، ۱۳۸۶. گزارش نهایی پروژه بررسی امکان تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون پرورشی (مولد سازی، تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی از مولدین تاس ماهیان پرورشی). انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۳۲ صفحه.

- ۱۲- پورامینی، م. و حسینی فر، ح.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیک ها و پریبیوتیک ها در آبری پروری. انتشارات موج سبز. ۱۰۴ صفحه.
- ۱۳- پورعلی، ح.ر.؛ محسنی، م.؛ آق تومان، و. و توکلی، م.، ۱۳۸۲. پرورش بچه ماهیان با درصدهای مختلف غذای کنسانتره فرموله شده. مجله علمی شیلات ایران. ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، صفحات ۳۷ تا ۴۸.
- ۱۴- تاکاشیما، ف. و هایبیا، ت.، ۱۹۹۴. اطلس بافت شناسی ماهی. ترجمه: ایرج پوستی و سید عبدالحمید صدیق مروستی، ۱۳۷۸. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ صفحه.
- ۱۵- دانیال زاده، آ.؛ زارعیان، خ. و وزیرنیا، س.، ۱۳۸۵. اصول زیست شیمی (اصول بیوشیمی). انتشارات مرکز نشر دانشگاهی. ۴۰۶ صفحه.
- ۱۶- ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر. ۶۵۹ صفحه.
- ۱۷- ستاری، م.؛ شاهسونی، د. و شفیع، ش.، ۱۳۸۲. ماهی شناسی (۲) سیستماتیک. نشر حق شناس. ۵۰۲ صفحه.
- ۱۸- سقا، ح.ر. و سروش نیا. م.، ۱۳۸۲. کتاب جامع تجهیزات و فرآورده های آزمایشگاهی. انتشارات کتاب میر. ۲۶۸۷ صفحه.
- ۱۹- سلطانی، م.، ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۴ صفحه.
- ۲۰- سوداگر، م.؛ آذری تاکامی، ق.؛ پانوماریف، س.؛ محمودزاده، ه.؛ عابدیان، ع. و حسینی، ع.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین بعنوان جاذب بر شاخص های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۲، تابستان ۸۴. صفحات ۴۱ تا ۴۹.
- ۲۱- شاهسونی، د.؛ وثوقی، غ.ج. و خضرای نیا، پ.، ۱۳۸۰. تعیین برخی شاخص های خونی ماهیان خاویاری انگشت قد (قره برون و ازون برون) در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۵۰، بهار ۸۰. صفحات ۱۴ تا ۱۸.
- ۲۲- شاهسونی، د.؛ مهری، م. و تقوایی مقدم، الف.، ۱۳۸۶. تعیین مقادیر برخی از آنزیم های سرم خون فیل ماهی خاویاری. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۲، شماره ۳، صفحات ۱۲۷ تا ۱۲۹.
- ۲۳- شیخ الاسلامی امیری، م.؛ یوسفیان، م.؛ یآوری، و.؛ محمدیان، ت.؛ ابهری، ح. و گوران، ح.، ۱۳۸۷. تحریک سیستم ایمنی در ماهی قزل آلا رنگین کمان و افزایش مقاومت در برابر باکتری استرپتوکوک با افزودن پریبیوتیک اینولین به جیره غذایی. نخستین همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

- ۲۴- عامری مهابادی، م.، ۱۳۷۸. روش های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۲۶ صفحه.
- ۲۵- عباسی، ک.؛ ولی پور، ع.ر.؛ طالبی حقیقی، د.؛ سرپناه، ع.ن. و نظامی بلوچی، ش.ع.، ۱۳۷۸. اطلس ماهیان ایران (آبهای داخلی گیلان). مرکز تحقیقات شیلاتی گیلان. ۱۱۳ صفحه.
- ۲۶- عبدلی، الف.، ۱۳۷۸. ماهیان آب های داخلی ایران. انتشارات موزه حیات وحش ایران. ۳۷۷ صفحه.
- ۲۷- فلاحتکار، ب.؛ سلطانی، م.؛ ابطحی، ب.؛ کلباسی، م.ر.؛ پورکاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵. تاثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۷۲، پاییز ۸۵. صفحات ۹۸ تا ۱۰۳.
- ۲۸- کاظمی، ر.؛ بهمنی، م.؛ پورکاظمی، م. و مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۱. گزارش نهایی پروژه بررسی سیستم اسمزی در تاس ماهی ایرانی. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۷ صفحه.
- ۲۹- کرایوشکینا، ال. اس.، ۱۹۹۹. تنظیم اسمزی در ماهیان. ترجمه: رضوان الله کاظمی، ۱۳۷۹. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۴۸ صفحه.
- ۳۰- کریم زاده، ص.؛ کریم زاده، ق. و اسماعیلی ملا، ع.، ۱۳۸۹. بررسی اثر پربیوتیک جیره غذایی به عنوان محرک رشد بر عملکرد و درصد تلفات بچه ماهی سفید دریای خزر *Rutilus frisii kutum*. مجموعه خلاصه مقالات اولین همایش ملی- منطقه ای اکولوژی دریای خزر. پژوهشده اکولوژی دریای خزر. صفحه ۱۵۱.
- ۳۱- کیوان، الف.، ۱۳۸۱. مقدمه ای بر بیوتکنولوژی پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۲۷۰ صفحه.
- ۳۲- گدارد، الف.، ۱۹۹۶. مدیریت غذا در پرورش متراکم آبزیان. ترجمه: فتح ا... بلداجی، ۱۳۸۲. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۲۳۷ صفحه.
- ۳۳- مجابی، ع. و حیدر نژاد، الف.، ۱۳۸۲. خون شناسی دامپزشکی و روش های آزمایشگاهی. انتشارات سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی. ۲۱۴ صفحه.
- ۳۴- محسنی، م.؛ پور کاظمی، م.؛ بهمنی، م.؛ پورعلی، ح.ر. و علیزاده، م.، ۱۳۷۹. پرورش گوشتی فیل ماهی در وان فایبر گلاس. پروژه مشترک با سازمان مدیریت و برنامه ریزی استان گیلان، ۳۰ صفحه.
- ۳۵- نوروژی، م.؛ مفتاح، ح. و کریم زاده، ص.، ۱۳۸۹. تاثیر مانان الیگوساکارید جیره غذایی به عنوان پربیوتیک بر عملکرد رشد، امعاء و احشاء، ترکیب لاشه و هورمون کورتیزول قزل آلاهی رنگین کمان. مجموعه خلاصه مقالات اولین همایش ملی- منطقه ای اکولوژی دریای خزر. پژوهشده اکولوژی دریای خزر. صفحه ۱۵۴.

۳۶- نیلسن، ن. الف. ۱۹۹۷. فیزیولوژی جانوری: سازش و محیط. ترجمه: اکبر وحدتی و حسین فتح پور، ۱۳۸۶. انتشارات دانشگاه اصفهان. ۵۵۰ صفحه.

۳۷- وثوقی، غ.ح. و مستجیر، ب. ۱۳۸۸. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۱۷ صفحه.

38- Abdel-Tawwab, M., Mousa, M.A., Sharaf, S. and Ahmed, M.H., 2005. Effect of crowding stress on some physiological functions of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*) fed different dietary protein levels. International Journal of Zoological Research. 1(1): 41- 47.

39- Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, W. and Li, H., 2007. Effect of dietary β -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Fish and Shellfish Immunology. 22: 394-402.

40- Akrami, R., Hajimoradloo, A.H., Matinfar, A. and Abedian Kinari, A.M., 2009. Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and hematological parameters of juvenile beluga, *Huso huso*. Journal of the World Aquaculture Society. 40(6): 771-779.

41- Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K. and Kumar, S., 2009. Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. Aquaculture Research. 41: 61-69.

42- AOAC, (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official methods of analysis of AOAC International. 16th edn. AOAC International, Arlington, Virginia, USA. 1298P.

43- Awill Company, 2007. Immunoster product information sheet. Australia.

44- Bagni, M., Romano, N., Finoia, M.G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P.G., Sarti, M. and Marino, G., 2005. Short- and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish and Shellfish Immunology. 18: 311-325.

45- Bahmani, M., Kazemi, R. and Donskaya, P., 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry. 24: 135-140.

- 46- Bavington, C.D., Lever, R., Mulloy, B., Grundy, M.M., Page, C.P., Richardson, N.V. and McKenzie, J.D., 2004. Anti-adhesive glycoproteins in echinoderm mucus secretions. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 139: 607-617.
- 47- Bland, E.J., Keshavarz, T. and Bucke, C., 2004. The influence of small oligosaccharides on the immune system. *Carbohydrate Research*. 399: 1673-1678.
- 48- Brett, J.R. and Groves, T.D.D., 1979. Physiology energetic. In: *Fish physiology*. Hoar, W.S., Randall, D.J. and Brett, J.R. (eds). Academic Press. New York, USA. Vol.VIII: 279-352.
- 49- Cain, K.D., Grabowski, L., Reilly, J. and Lytwyn, M., 2003. Immunomodulatory effects of a bacterial-derived β -1, 3-glucan administered to tilapia, *Oreochromis niloticus*, in a spirulina-based diet. *Aquaculture Research*. 34: 1241-1244.
- 50- Candill, S.P. and Boone, D.J., 1986. Analytical variance and definition of a reference change as a function of calcium concentration. *Clinical Chemistry* 32: 308-313.
- 51- Chebanov, M. and Billard, R., 2001. The culture of sturgeon in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. *Aquatic Living Resources*. 14: 375-381.
- 52- Chen, D. and Ainsworth, A.J., 1992. Glucan administration potentiates immune defense mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Fish Diseases*. 15: 295-304.
- 53- Cuesta, A., Meseguer, J. and Esteban, M.A., 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 101: 203-210.
- 54- Dalmo, A.R. and Bogwald, J., 2008. β -glucans as conductors of immune symphonies. *Fish and Shellfish Immunology*. 25: 384-396.

- 55- Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R. and Davis, S.J., 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 300: 182-188.
- 56- Delzenne, N. and Roberfroid, M.B., 1994. Physiological effects of nondigestible oligosaccharides. *Lebensmittel.-Wissenschaft und-technologie Lebensm.* 27:1-6.
- 57- Deng, X., 2000. Artificial reproduction and early life stages of the green sturgeon (*Acipenser medirostris*). MS thesis, University of California, Davis, USA. 63P.
- 58- Dixon, B. and Stet, R.J.M., 2001. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. *Developmental and Comparative Immunology*. 25: 683-700.
- 59- Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assays. In: *Techniques in Fish Immunology*. Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B. (eds). SOS Publication, USA. pp.101-103.
- 60- Engstad, R.E. and Robertsen, B., 1993. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophages. *Developmental and Comparative Immunology*. 17: 319-330.
- 61- Fonseca, A.P., Falcao, L., Kocher, A. and Spring, P., 2004. Effects of dietary mannan oligosaccharide in comparison to oxytetracyclin of performance of growing rabbits. In: 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico. pp: 829-833.
- 62- Fooks, L.J., Fuller, R. and Gibson, G.R., 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*. 9: 53-61.
- 63- Fooks, L.J. and Gibson, G.R., 2002. Probiotic as a modulator of the gut flora. *British Journal of Nutrition*. 88(1): 39-49.

- 64- Gatlin III, D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Fish nutrition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (eds). Academic press, SanDiego California, USA. pp: 671-702.
- 65- Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E. and Yilmaz, E., 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus*. Aquaculture Nutrition. 13: 156-161.
- 66- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. The Journal of Nutrition. 125: 1401- 1412.
- 67- Grisdle-Helland, B., Helland, S.J. and Gatlin III, D.M., 2008. The effect of dietary supplement with mannan-oligosaccharide, fructo-oligosaccharide or galacto- oligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 283: 163-167.
- 68- Holcik, J., 1989. The freshwater fishes of Europe. Volume 1, Part II. General introduction to fishes: Acipenseriformes. AULA-Verlag GmbH, Wiesbaden, Germany. 469P.
- 69- Hooze, D., 2004a. Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003. International Journal of Polture Sciences. 3: 163-174.
- 70- Hooze, D., 2004b. Turkey pen trials with dietary mannan oligosaccharide: Metaanalysis, 1993-2003. International Journal of Polture Sciences. 3: 179-188.
- 71- Houston, A.H., 1990. Blood and circulation. In: Methods for fish biology. Schreck, C.B. and Moyle, P.B. (eds). American Fisheries Society, Maryland, USA. pp: 273-334.
- 72- Hung, S.S.O. and Lutes, P.B., 1987. Optimum feeding rate of hatchery-produced juvenile white Sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20 °C. Aquaculture. 65: 307-317.

- 73- Hung, S.S.O., Lutes, P.B. and Storebakken, T., 1989. Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub-yearling at different feeding rates. *Aquaculture*. 80: 147-153.
- 74- Hung, S.S.O., Lutes, P.B., Shqueir, A.A. and Conte, F.S., 1993. Effect of feeding rate and water temperature on growth of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*. 115: 297-303.
- 75- Hung, S.S.O., Storebakken, T., Cui, Y., Tian, L. and Einen, O., 1997. High-energy diets for white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture Nutrition*. 3: 281-286.
- 76- ICC, (Industrial Comercio Exportacao E. Importacao), 2007. Immunowall product information sheet. Brazil.
- 77- Jeney, G. and Jeney, Z., 2002. Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defense mechanisms in sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus* × *A.baeri*. *Journal of Applied Ichthyology*. 18: 416-419.
- 78- Jenkiss, D.J.A., Kendall, C.W.C. and Vuksan, V., 1999. Inulin, oligofructose and intestinal function. *The Journal of Nutrition*. 129: 1431-1433.
- 79- Kasumyan, A.O., 1999. Olfactory taste senses in sturgeon behaviour. *Journal of Ichthyology*. 15: 228-232.
- 80- Kazemi, R., Bahmani, M., Hallajian, A., Pourkazemi, M. and Dezhandian, S., 2006. Investigation of blood serum osmo- and ion-regulation of mature and reared juvenile *Acipenser persicus*. *Journal of Applied Ichthyology*. 22:188-192.
- 81- Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M. and Hassan, M.D., 2006a. Immune response of Beluga (*Huso huso*) subjected to long term exposure to sublethal concentration of the organophosphate, diazinon. *Aquaculture*. 256: 88-94.
- 82- Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M., Kazemi, B. and Hassan, M.D., 2006b. Purification and partial characterization of serum immunoglobulins from

Caspian Sea sturgeons. Bulletin European Association Fish Pathology. 26: 58-62.

83- Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M. and Hassan, H.M.D., 2007. Immune responses of great sturgeon (*Huso huso*) to *Aeromonas hydrophila* bacterin. Journal of Fish Biology. 70: 1931-1938.

84- Kiabi, B., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. Zoology in the Middle East. 18: 57-65.

85- Klontz, G.W., 1994. Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A. (eds). Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp.121-132.

86- Krayushkina, L.S., and Vasilava, E.V., 1975. Changes in ultrastructure of sturgeon chloride cells during adaptation to a hyperosmotic medium. Archives of anatomy, histology and embryology. 68: 11-16.

87- Krayushkina, L.S., Panov, A.A., Gerasimov, A.A. and Potts, W.T.W., 1996. Changes in sodium, calcium and magnesium ion concentration in sturgeon (*Huso huso*) urine and in kidney morphology. Journal of Comparative Physiology B. 165: 527-533.

88- Krayushkina, L.S. and Semenova, O.G., 2006. Osmotic and ion regulation in different species of Acipenserids (Acipenseriformes, Acipenseridae). Journal of Ichthyology. 46(1): 108-119.

89- Kumar, S. and Tembhre, M., 1998. Anatomy and physiology of fishes. Vikas publishing house. PVT LTD, New Delhi, India. 275P.

90- Li, P. and Galtin III, D.M., 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). Aquaculture. 219: 681-692.

- 91- Linehan, S.A., Martinez-Pomares, L. and Gordon, S., 2000. Macrophage lectins in host defence. *Microbes and Infection*. 2: 279-288.
- 92- Luo, G., Xu, J., Teng, Y., Ding, C. and Yan, B., 2010. Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) reared in freshwater. *Aquaculture Research*. 41: 210-219.
- 93- Maetz, J., and Bornancin, M., 1975. Biochemical and biophysical aspects of salt excretion by chloride cells in teleosts. *Fortschr Zool*. 23 (2-3): 322-362.
- 94- Miguel, J.C., Rodriguez-Zas, S.L. and Pettigrew, J.E., 2002. Practical response to Bio-Mos in nursery pigs: a meta-analysis. Lyons, T.P. and Jacques, K. (eds). Nottingham university press, Lexington, KY.pp: 425-433.
- 95- Miles, R.D., 1993. Manipulation of the microflora of the gastrointestinal tract: natural ways to prevent colonization by pathogens. In: *Biotechnology in feed industry*. Lyons, T.P. (ed). Nottingham university press, Nottingham, UK. pp: 133-150.
- 96- Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C. and Pattnaik, P., 2006. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*. 255: 82-94.
- 97- Mohseni, M., Pourkazemi, M., Bahmani, M., Falahatkar, B., Pourali, H.R. and Salehpour, M., 2006. Effects of feeding rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology*. 22: 278-282.
- 98- Newman, K., 2007. Form follows function in picking MOS product. *Feedstuffs*. 79(4): 1-2.
- 99- Ortuno, J., Cuesta, A. and Rodriguez, A., 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 85: 41-50.
- 100- Pryor, G.S., Royes, J.B., Chapman, F.A. and Miles, R.D., 2003. Mannan oligosaccharides in fish nutrition: effects of dietary supplementation on

growth and gastrointestinal villi structure in Gulf of Mexico sturgeon. North American Journal of Aquaculture. 65: 106-111.

101- Raa, J., 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. Reviews in Fisheries Science 4(3): 229-288.

102- Rehulka, J., Minarik, B., Adamec, V. and Rehulkova, E., 2005. Investigation of physiological and pathological levels of total plasma in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Research. 36(1): 22-32.

103- RingØ, E., Bendiksen, H.R., Gausen, S.J., Sundsfjord, A. and Olsen, R.E., 1998. The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. Journal of Applied Microbiology. 85: 855- 864.

104- RingØ, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I. and Bake, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. Aquaculture Nutrition. 16: 117-136.

105- Roberfroid, M. and Slavin, J., 2000. Nondigestible oligosaccharides. Critical Reviews in Food Science Nutrition. 40: 461-480.

106- Robertsen, R., Engstad, R.E. and Jorgensen, J.B., 1994. β -glucans as immunostimulants in fish. In: Modulators of fish immune responses. Stolen, J.S. and Fletcher, T.S. (eds). SOS publications, Fair Haven, New Jersey, pp: 83-99.

107- Robertsen, B., 1999. Modulation of the non-specific defense of fish by structurally conserved microbial polymers. Fish and Shellfish Immunology. 9: 269-290.

108- Rodriguez A., Cuesta, A., Ortuno, J., Esteban, M.A. and Meseguer, J., 2003. Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata*). Veterinary Immunology and Immunopathology. 96: 183-192.

- 109- Rosenthal, A., 2000. Status and prospects of sturgeon farming in Europe. Institute für Meereskunde Kiel Düsternbrooker Weg 20 2300 Kiel, Federal Republik of Germany. pp.144-157.
- 110- Ross, L.G. and Ross, B., 1999. Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 2nd edition. Blackwell Science, Oxford, UK. p.176.
- 111- Sado, R.Y., Almeida Bicudo, A.J.D. and Cyrino, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the World Aquaculture Society. 39(6): 821-826.
- 112- Salze, G., Malean, E., Schwarz, M.H. and Craig, S.R., 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. Aquaculture. 274: 148-152.
- 113- Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-92.
- 114- Samrongpan, C., Areechon, N., Yoonpundh R. and Srisapoome, P., 2009. Effects of mannan-oligosaccharide on growth, survival and disease resistance of Nile tilapia fry. Proceeding of Asian Pacific Aquaculture. Malaysia. p. 481.
- 115- Sandberg, T., Nestor, M., Pahlson, C., Shi, L. and Caldwell, K.D., 2000. Mucin as surface protectant against bacterial adhesion. Abstracts of Papers of the American Chemical Society. p. 35.
- 116- Sang, H.M. and Fotadar, R., 2010. Effect of mannan-oligosaccharide dietary supplementation on performances of the tropical spiny lobsters juvenile (*Panulirus ornatus*). Fish and Shellfish Immunology. 28: 483-489.
- 117- Schley, P.D. and Field, C.J., 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. British Journal of Nutrition. 87: 221-230.

- 118- Sohn, K.S., Kim, M.K., Kim, J.D. and Han, I.K., 2000. The role of immunostimulants in monogastric animal and fish- review. Asian-Australian Journal of Animal Sciences. 13: 1178-1187.
- 119- Soltani, M., Pourgholam, R., Kazemi, B. and Hassan, M.D., 2003. Purification and partial characterization of serum immunoglobulin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Bulletin European Association Fish Pathology. 23(3): 102-107.
- 120- Soltani, M., Khoshbavar Rostami, H.A. and Mokarami, A., 2007. Toxicity and immune response of great sturgeon (*Huso huso*) following exposure to creoste. Book of abstracts, 6th International Symposium on Fish Immunology, Stirling. Scotland. p.75.
- 121- Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A. and Zargar, A., 2010. Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries and Aquatic Science. 5(3): 191-199.
- 122- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. and Sweetman, J., 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture International. 15: 153-161.
- 123- Stoskopf, M.K., 1993. Clinical pathology. In: Fish medicine. Stoskopf, M.K. (ed). Saunders Company, Philadelphia, USA. pp. 113-131.
- 124- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L. and Izquierdo, M.S., 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immunology. 23: 969-981.
- 125- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Gines, R., Sweetman, J. and Izquierdo, M.S., 2010. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition. (In press).

- 126- Van Loo, J., Cummings, J., Delzenne, N., Franck, A., Hopkins, M., Macfarlane, G., Newton, D., Quigely, M., Roberfroid, M., Van Vliet, T. and Van Den Heuvel, E., 1999. Functional food properties of non-digestible oligosaccharide: a consensus report from the ENDO project. *British Journal of Nutrition*. 81: 121-132.
- 127- Vegad, L.J., 2008. Poultry diseases: A guide for farmers and poultry professionals. International Book Dist. 892P.
- 128- Welker, T., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R. and Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of the World Aquaculture Society*. 38(1): 24-35.
- 129- Wiegertjes, G.F., Stet, R.J.M., Parmentier, H.K. and Muiswinkel, W.B., 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparable approach. *Developmental and Comparative Immunology*. 20: 365-381.
- 130- Winton, J.R., 2001. Fish health management. In: Wedemeyer, G. (ed). Fish hatchery management. 2nd edition. Bethesda, MD: American Fisheries Society. pp: 559-639.

A comparative study on effects of Immunoster and Immunowall as immunostimulants on some hematological, biochemical and growth indices of farmed great sturgeon juveniles (*Huso huso*)

Abstract

Prebiotics are non-digestible food ingredients that profitably affect the host by selectively stimulating the growth and /or activation of one or a limited number of bacteria in the intestine that can enhance host health status. Immunoster (IS) and Immunowall (IW) are prebiotics and immunostimulants derived from the outer cell wall of brewers yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. These substances contain MOS and β -glucans.

After a four-week acclimatization period to rearing conditions and basal diet, 450 farmed great sturgeon juveniles weighing 95.58 ± 9.38 g were randomly distributed into 15 fiberglass tanks ($2 \times 2 \times 0.53$ m) in five treatments (Control, IS 1%, IW 1%, IS 3%, and IW 3%) in three replicates (completely randomized design) and kept at a density of 30 fish per tank for a period of 8 weeks at water temperature $20.55 \pm 5.11^{\circ}\text{C}$, dissolved oxygen 6.73 ± 0.35 mg L⁻¹ and pH 7.92 ± 0.09 . IS and IW were added at two levels of 1% and 3% to the basal diet in place of cellulose, except the control. At the beginning, in the middle and at the end of the trial, carcass analysis was done to determine the moisture, protein, fat, ash, and total carbohydrate. Also, blood samples were collected to measure hematological, biochemical and immune indices.

At the end of the trial, final weight, final length, body weight increase (BWI), specific growth rate (SGR), average daily growth (ADG), protein efficiency ratio (PER), feed conversion ratio (FCR), and condition factor (CF) in fish fed on IS and IW in both levels 1% and 3% showed some differences. These differences were significant in IS 3% and IW 1% and 3% compared with the control ($P < 0.05$). HSI showed no significant difference ($P > 0.05$) and survival rate was 100% in all treatments.

Crude protein of carcass in fish fed on IS and IW at 1% and 3% showed an increase in comparison with the control. There was significant difference between IS 3% and the control in crude protein of carcass ($P < 0.05$).

Fish fed on IS and IW at 1% and 3% showed various results in hematological and biochemical factors. It was observed significant difference in MCV between IW 1% and IS 3% compared with the control ($P < 0.05$).

Although there was an increase in values of hematocrit, hemoglobin (except IS 1%), WBC (except IW 3%), MCH, neutrophil, total protein, albumin (except IS 3%), K⁺, and lysozyme in fish fed on IS and IW compared with the control, it

was no significant ($P>0.05$). The maximum count of WBC and the highest value of Ca^{2+} were seen in IW 1%. The maximum count of lymphocyte, the highest values of total protein, albumin and IgM were recorded in IW 3%. IS 1% had the maximum count of neutrophil and the highest concentration of lysozyme. Based on obtained results, it can be declared that IS and IW at two levels of 1% and 3% can enhance growth performance and feed efficiency and also improve some hematological, biochemical, and immune indices in farmed great sturgeon juveniles.

Keywords: Great Sturgeon (*Huso huso*), Immunostimulants, Immunoster, Immunowall, Growth Performance, Hematological and Biochemical Indices.

By: Reza Ta'ati